

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE"
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL
ESTADO

PROGRAMA ÚNICO DE ESPECIALIDADES MÉDICAS
ESPECIALIDAD EN GENÉTICA MÉDICA

**ANÁLISIS DE METILACIÓN ALELO - ESPECÍFICO EN PACIENTES CON SÍNDROME
DE PRADER-WILLI**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y MOLECULAR

TESIS

QUE PARA OBTENER POR EL GRADO DE ESPECIALISTA EN GENÉTICA MÉDICA

P R E S E N T A

DRA. SAMANTHA LÓPEZ RAMÍREZ

TUTORA: DRA. MARÍA DEL CARMEN CHIMA GALÁN

ASESORES DE TESIS:

DRA. YURITZI SANTILLÁN HERNÁNDEZ

DRA. LILIANA GARCÍA ORTIZ

CIUDAD DE MÉXICO, JULIO, 2019.

NO. DE REGISTRO: 150.2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. MAURICIO DI SILVIO LÓPEZ

SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DRA. YURITZI SANTILLÁN HERNÁNDEZ

**PROFESOR TITULAR DEL POSGRADO EN GENÉTICA MÉDICA
Y ASESOR DE TESIS**

DRA. MARIA DEL CARMEN CHIMA GALÁN

**PROFESOR ADJUNTO DEL POSGRADO EN GENÉTICA MÉDICA
Y ASESOR DE TESIS**

SUSTENTANTE:

DRA. SAMANTHA LÓPEZ RAMÍREZ

**SERVICIO DE GENÉTICA MÉDICA
CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE" ISSSTE**

AGRADECIMIENTOS

Aunque a veces no lo parezca, todas las buenas historias tienen su final, y a pesar de que por miedo e inseguridad he postergado consciente o inconscientemente la redacción de mi tesis, aquí me encuentro redactando las últimas palabras de mi trabajo de especialidad.

Agradezco, primero a Dios y a la vida que tengo, a mi madre Isabel que siempre me ha apoyado en todo lo que he decidido, ha sido mi mayor ejemplo de vida, la que con trabajo y esfuerzo nos sacó adelante, a la que le debo todo; a mi padre Francisco por siempre confiar en mí y darme los mejores consejos. A mi hermana Liliana quien siempre ha sido fuente de mi inspiración, me ha protegido y amado sin condición. A mi tía Elsa por ser mi amiga y alentarme a seguir adelante con mis sueños, a mi abuela Hermelinda por ser fuerte y trabajadora y darme su cariño siempre. A mi tía Carolina por ser una de las personas que siempre tiene algo bueno y cariñoso que decirme. A toda mi familia de la cual estoy muy orgullosa; mis tíos (Luis, Carlos y Zoy) a los mejores primos que puedo tener (Katy, Itzy, Ary, Alberto y Charly) a los nuevos primos (Crys, Sergio, y Alo) a mis sobrinos (Kami, Ian, Sergio, Denisse, Diego y Alan); por que aún en la distancia, siempre han estado para mí y me han acompañado y apoyado en esta maravillosa vida, a todos, los amo mucho, han dejado huella en mi corazón. Por último, aunque se que los versos más sinceros se escriben sin palabras, quiero agradecer a Oscar, el amor de mi vida, quien siempre me ha alentado, apoyado e inspirado a ser la mejor versión de mí y superarme, quien me ha demostrado que vale la pena soñar... Te amo .

También mi más sincero agradecimiento, a la Dra. Yuri por creer en mí y darme esta maravillosa oportunidad, por que sin usted no sería posible. A la Dra. Carmen, por su apoyo, paciencia y dedicación en su labor al enseñarme. A la Dra. Lili, por acompañarme y transmitirme conocimiento y apoyo. Al resto de mis amigos (Miguel, Adri y Angy) y compañeros, muchas gracias.

Índice:

I. RESUMEN:	5
II. INTRODUCCIÓN:	6
A. ANTECEDENTES	6
B. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	9
C. JUSTIFICACIÓN:	10
D. OBJETIVOS	12
1. OBJETIVO GENERAL:	12
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
III. MARCO TEORICO	13
A. CAPITULO I: SÍNDROME DE PRADER WILLI	13
7. HISTORIA DEL SÍNDROME DE PRADER WILLI	13
8. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	15
9. DEFINICIONES Y VARIEDADES CLÍNICAS	16
10. CUADRO CLÍNICO	17
11. ETIOLOGÍA	36
6. DIAGNÓSTICO	52
DIAGNÓSTICO CLÍNICO	52
DIAGNÓSTICO GENÉTICO	58
7. MANEJO Y SEGUIMIENTO DE PACIENTES CON SPW	61
8. ASESORAMIENTO GENÉTICO	66
IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN:	71
A. DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO:	71
B. POBLACIÓN DE ESTUDIO:	71
C. UNIVERSO DE TRABAJO:	71
D. RECURSOS:	72
E. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS A EMPLEAR:	72
1. CONDICIONES DE LA PCR ALELO-ESPECÍFICA	74

F. ASPECTOS ÉTICOS	77
1. CONSENTIMIENTO INFORMADO	78
2. CONFLICTO DE INTERESES	78
G. ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD	79
V. RESULTADOS	83
VI. DISCUSIÓN	99
VII. CONCLUSIONES	101
VIII. BIBLIOGRAFÍA	103
IX. ANEXOS	110
Anexo 1: Extracción de DNA: Método Salino modificado.	110
Anexo 2: Modificación de DNA Kit de Metilación EZDNA Zymo Research Catalogo D5001 & D5002	111
Anexo 3: Cedula de recolección de Datos de Pacientes	112
X. ABREVIATURAS	119
XI. GLOSARIO	120

I. RESUMEN:

El SPW es un trastorno multisistémico con una prevalencia que va de 1/10.000-1/30.000 individuos recién nacidos vivos. Se caracteriza por hipotonía severa, dificultad para la succión en la primera infancia, seguida de la excesiva compulsión por comer y el desarrollo gradual de obesidad mórbida. Los hitos del desarrollo en el área motora y de lenguaje presentan un retraso con discapacidad cognitiva. El hipogonadismo está presente tanto en hombres como en mujeres y se manifiesta como hipoplasia genital, desarrollo puberal incompleto e infertilidad. La talla baja esta relacionada con la insuficiencia de la hormona del crecimiento (GH). Dentro de las características faciales típica además de mayor incidencia de trastornos del sueño y Diabetes mellitus tipo 2. La etiología del SPW, se produce como resultado de la ausencia de expresión de genes paternos de la región cromosómica 15q11.2-q13. Esta falta de expresión se produce por tres mecanismos primarios: (i) la supresión de una región de 5-6 Mb, por delección, de la contribución paterna del cromosoma 15 (ii) disomía uniparental (DUP) materna; y (iii) un defecto en la región genómica que controla el proceso de impronta, un denominado defecto de impronta (DI: 1-3%). El pilar diagnóstico es la realización de un estudio molecular: pruebas

sensibles a metilación del DNA detectan la impronta anormal específica en la región crítica en el cromosoma 15. Esta prueba determina la ausencia de la región heredada del padre, y muestra más del 99% de los individuos afectados. Debido a lo anterior es importante realizar la evaluación clínica, con sospecha clínica y su corroboración molecular de manera precoz, de los pacientes que acuden al ISSSTE, ya que es indispensable para el adecuado manejo multidisciplinario de estos pacientes. Este estudio busca confirmar el diagnóstico clínico de los pacientes con SPW, mediante el test de metilación alelo específico, en pacientes de la consulta médica del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE.

II. INTRODUCCIÓN:

A. ANTECEDENTES

El síndrome de Prader-Willi (SPW) fue descrito por primera vez en 1887, por John Langdon Down, quien lo llamó Polisarcia. En la década de los 50s, el profesor Andrea Prader, director en jefe del Hospital de Niños de Zurich, valoró pacientes pediátricos que presentaban sobrepeso, baja estatura, manos y pies pequeños y “un bajo nivel de inteligencia”. Junto a los especialistas Heinrich

Willi y Alexis Labhart, Prader investigó estos síntomas y en 1956 estos tres doctores fueron los primeros en describir en una publicación científica, el síndrome Prader-Labhart- Willi, hoy generalmente denominado Síndrome Prader-Willi. [Cassidy et al 2012].

El SPW es un trastorno multisistémico con una prevalencia estimada en varias poblaciones estudiadas de 1/10.000-1/30.000 individuos recién nacidos vivos. Se caracteriza por una hipotonía severa con dificultad para la succión en la primera infancia, seguida de la excesiva compulsión por comer durante la infancia tardía y el desarrollo gradual de obesidad mórbida. Los hitos del desarrollo en el área motora y de lenguaje presentan un retraso y todos los individuos tienen algún grado de discapacidad cognitiva. El fenotipo de comportamiento distintivo de estos pacientes es la presencia de rabietas, terquedad y comportamiento manipulador y compulsivo. El hipogonadismo está presente tanto en hombres como en mujeres y se manifiesta como hipoplasia genital, desarrollo puberal incompleto y, en la mayoría, infertilidad. La baja estatura es común, relacionada con la insuficiencia de la hormona del crecimiento (GH). Dentro de las características faciales encontramos, estrabismo y alteraciones esqueléticas; y hay una mayor incidencia de trastornos

del sueño y otros, especialmente en los que desarrollan obesidad. [Cassidy et al 2012]

La etiología del síndrome de Prader Willi se produce como resultado de la ausencia de expresión de genes paternos de la región cromosómica 15q11.2-q13. Varios genes en esta región están sujetos a impronta génica y normalmente son activos sólo a partir del cromosoma 15 aportado paternalmente. Esos mismos alelos del cromosoma de origen maternal son inactivados por factores epigenéticos y no se expresan. La ausencia de expresión de uno o más de los genes heredados paternalmente debe contribuir al fenotipo de SPW. [Cassidy et al 2012].

Esta falta de expresión se produce por tres mecanismos primarios: (i) la supresión de una región de 5-6 Mb, por delección, del cromosoma 15 paterno (65-75%); (ii) disomía uniparental (DUP) materna (20-30%); y (iii) un defecto en la región genómica que controla el proceso de impronta, un denominado defecto de impronta (1-3%). Los Defectos de Impronta (DI) son usualmente esporádicos, pero pueden deberse a una microdelección en el centro de impronta (CI) y en este último caso pueden ser heredados.

Aunque los criterios diagnósticos clínicos de los consensos publicados están disponibles y son precisos, el pilar del diagnóstico de certeza, es la realización de un estudio molecular. Las pruebas sensibles a metilación del DNA detectan la impronta anormal específica en la región crítica de Prader-Willi en el cromosoma 15. Esta prueba determina si la región está heredada maternalmente (es decir, la impronta paterna normal está ausente) y detecta más del 99% de los individuos afectados. Por lo que los usos de herramientas moleculares son importantes para confirmar el diagnóstico, y especialmente en aquellos pacientes que tienen presentaciones atípicas o que son demasiado jóvenes para cumplir con todas las características clínicas del síndrome.

B. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Aunque se sabe que en el SPW existen diferentes alteraciones genéticas que lo originan, todos tienen una causa común que se representa como la pérdida o inactivación de genes paternos en la región q11-q13 del cromosoma 15. Actualmente el diagnóstico genético se lleva a cabo mediante una prueba de DNA llamada análisis de metilación alelo - específico, sobre una muestra de sangre, esta es la técnica más informativa ya que identifica las

principales alteraciones asociadas al SPW hasta en 99% de los casos, aunque no permite diferenciarlas entre ellas, por lo que se puede complementar con otros estudios como hibridación Fluorescente in situ (FISH), y/o de microsatélites, Así mismo es importante determinar la alteración genética que origina cada caso de SPW para proponer y asegurar un consejo genético adecuado, con la intención de conocer el riesgo de recurrencia para los padres del paciente. En el Centro Médico Nacional, actualmente contamos con el estudio de FISH, para confirmar el diagnóstico de Síndrome de Prader Willi, sólo en los casos de microdelección de la región, por lo que con este estudio, se pretende otorgar el diagnóstico a la mayoría de los pacientes con este síndrome en donde existe una alteración de la metilación.

C. JUSTIFICACIÓN:

La evidencia aportada por estos estudios indica que el diagnóstico precoz combinado con la intervención multidisciplinaria de especialistas médicos, disminuye el tiempo de hospitalización y el tiempo de alimentación por sonda gástrica, optimiza la revisión de la disfunción endocrina y previene el retraso de crecimiento y la obesidad temprana en los niños con SPW. La disminución del

tiempo de alimentación por sonda es de gran importancia ya que los problemas específicos del habla y del lenguaje observado en estos pacientes pueden empeorar por una alimentación por sonda prolongada. Además, el uso de hormona del crecimiento (GH) a edades tempranas no sólo acelera el crecimiento, sino que también mejora la composición corporal, el nivel de actividad física y tal vez las funciones cognitivas. Por otra parte, el diagnóstico precoz favorece el inicio del tratamiento dietético de forma temprana. Un tratamiento dietético iniciado en el segundo año de vida y mantenido hasta los 10 años ha demostrado ser efectivo para evitar la ganancia excesiva de peso, y una estatura baja en los pacientes con SPW, por lo cual se traduce en una mejoría en la evolución natural de esta enfermedad. Asimismo, una proporción corporal normalizada predispone a una mayor actividad física, que es otro factor importante del control de peso. La intervención dietética temprana también tiene un efecto educacional positivo para evitar o aliviar los comportamientos compulsivos de ingesta de comida, a lo que ayuda una dieta hipercalórica. La intervención precoz evitando la obesidad influye también en el desarrollo cerebral de los niños con SPW, resultando en un cociente intelectual superior a aquellos que no han sido controlados desde su niñez.

D. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL:

- Identificar alteraciones de la impronta en la región flanqueadora de SNRPN mediante la utilización de pruebas sensibles a metilación, en pacientes con Síndrome de Prader-Willi del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características clínicas, los hallazgos del laboratorio y de gabinete de los pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Prader-Willi (SPW).
- Realizar un análisis de metilación alelo-específico para confirmar el diagnóstico de Síndrome de Prader-Willi.
- Presentar un algoritmo para el diagnóstico en el síndrome de Prader-Willi.

III. MARCO TEORICO

A. CAPITULO I: SÍNDROME DE PRADER WILLI

7. HISTORIA DEL SÍNDROME DE PRADER WILLI

El Síndrome de Prader-Willi fue descrito en 1956 por los suizos Andrea Prader, Heinrich Willi, Alexis Labhart, Andrew Ziegler y Guido Fanconi basado en 9 niños con un cuadro común de estatura baja, déficit intelectual, obesidad, pies y manos pequeñas e hipogonadismo entre otros rasgos. En 1961 expandieron el fenotipo característico de este síndrome, añadiendo la presencia de hipotonía en una fase temprana de la infancia, y en una etapa más tardía el desarrollo de diabetes mellitus.

Sin embargo, ya en el año 1887, en el libro *Mental Affections of Childhood and Youth* de John Langdon Down, se había mencionado, bajo el nombre de polisarcia, un posible caso de SPW. En él se describe a una niña de 14 años que medía 132 cm. y pesaba 89 kg, con cuadro de retraso mental y obesidad. En una revisión posterior, a los 25 años de edad, había alcanzado los 95 kg. Según el propio autor: "Sus manos y pies se mantuvieron pequeños y contrastaba notablemente con sus extremidades. No presentaba

vello en las axilas y sólo ligeramente en el pubis. Nunca tuvo menstruación ni presentó el más mínimo deseo sexual”.

Posteriormente, ya en la década de 1980, los estudios de Ledbetter (1981), Butler y Palmar (1983) y Nicholls (1989), definieron los mecanismos implicados en la aparición del síndrome, relacionándolo con deleciones en el brazo largo del cromosoma 15 procedente del padre.

En la década de 1990, Holm realizó un estudio (1993) en el que se establecieron los criterios vigentes hasta 2001, para su diagnóstico, y Kennerknecht propuso un modelo (1992) según el cual los mecanismos de expresión principales del síndrome serían dos: por una parte una mutación cromosómica o génica específica y por otro lado, un mecanismo epigenético inespecífico, siendo ambos necesarios para que se den las manifestaciones clínicas propias del SPW. En la actualidad se han considerado más mecanismos genéticos por lo que se genera el padecimiento y se sustituyeron los criterios propuestos, por los referidos por Gunay-Aygun, que permiten considerar los datos clínicos para la realización de las pruebas moleculares disponibles.

8. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

El síndrome de Prader-Willi afecta a ambos géneros en tasas similares (con estimaciones de prevalencia que oscilan entre 1: 10,000 y 1: 30,000 nacidos vivos), y se calcula que existen aproximadamente 400,000 personas diagnosticadas con PWS viviendo en todo el mundo. Una tasa de mortalidad anual del 1-4%. Otro estudio grande sugirió un riesgo relativo de muerte de seis veces en PWS versus otras personas con discapacidades del desarrollo. (Einfeld, et al., 2006). En un estudio, las enfermedades respiratorias y otras enfermedades febriles fueron las causas más frecuentes de muerte en los niños, y los problemas cardiovasculares relacionados con la obesidad y las causas gástricas o la apnea del sueño fueron más frecuentes en los adultos. Otras causas de morbilidad incluyen diabetes mellitus, tromboflebitis y problemas de la piel (p. Ej., Edema crónico e infección por picadura de la piel). (Schrandt-Stumpel, et al., 2004; Stevenson DA, et al., 2004; Tauber, et al, 2008)

Se ha informado que la asfixia, es la causa de muerte en aproximadamente el 8% de las muertes en personas con SPW. (Stevenson DA, et al. 2007).

9. DEFINICIONES Y VARIEDADES CLÍNICAS

El síndrome de Prader-Willi es un trastorno del desarrollo neurogenético causado por la ausencia de expresión de genes de la región cromosómica 15q13 del alelo paterno, debido a una pérdida de material de origen paterno (DEL), disomía uniparental materna (DUP), defectos de impronta o generados por translocación cromosómica paterna que alteren la expresión de los genes localizados en esa región (Cassidy et al., 2012). En situación contraria la falta de genes maternos funcionales en la misma región cromosómica, crea un fenotipo y un espectro del desorden completamente diferente (aunque, en muchos aspectos, similares), conocido como síndrome de Angelman.

A diferencia de muchos otros trastornos genéticos que llevan distintivos rasgos fenotípicos, el fenotipo de SPW es complejo y varía significativamente entre los individuos y en los puntos de tiempo del desarrollo, lo que dificulta el diagnóstico temprano y el manejo clínico. Algunos rasgos fenotípicos clave son la hipotonía central (durante los períodos del recién nacido y la infancia), características faciales (dolicocefalia, disminución del diámetro biparietal, ojos almendrados, fisuras palpebrales dirigidas hacia

arriba, labio superior delgado, microstomia, con comisuras de labios dirigidas hacia abajo, y boca triangular), hipogonadismo, retrasos global del neurodesarrollo, diversos problemas de conducta y discapacidad intelectual (con un cociente intelectual entre 50-80) (Holm et al., 1993; Sinnema et al., 2011).

10. CUADRO CLÍNICO

Generalmente, la presentación del fenotipo PWS evoluciona y se manifiesta durante la infancia temprana y tardía (Butler, 1990; Holm et al., 1993; Volpe et al., 1995), pero, en el momento del nacimiento y durante el período postnatal temprano, estas manifestaciones fenotípicas son sutiles o están ausentes, lo que dificulta el diagnóstico temprano de SPW (Miller et al., 1999). Las características físicas también pueden cambiar con la edad y el aumento de peso (Mattei et al., 1983). Dentro del cuadro clínico, (Tabla 1) estos individuos desarrollan hiperfagia en la primera infancia, lo que conduce a un rápido aumento de peso y obesidad (un tercio de la población de SPW tiene un peso corporal total que es 200% mayor que su peso saludable ideal (Butler y Meaney, 1991). Hay varios rasgos de comportamiento y de diferentes grados de severidad. Estos incluyen, déficit cognitivo; alteraciones

endocrinológicas; trastorno conductual y malnutrición, que conducen a una hipotonía y retraso del crecimiento posteriores (Aycan y Bas, 2014).

Numerosos trabajos indican diferencias significativas para la mayoría de los rasgos fenotípicos dependiendo de la anomalía genética que presente el paciente (Horsthemke B, et al, 2008; Perk J, et al, 2002). Según estos estudios, los pacientes con delección presentan un fenotipo más grave y los individuos con DUP presentan con menos frecuencia hipopigmentación y facies característica, aunque el autismo y la psicosis son más frecuentes. (Garnacho, 2009). (Tabla 1)

Finalmente, la característica clave es la alimentación compulsiva, que conduce al aumento de peso y la obesidad, esta se presenta en la infancia, durante la adolescencia y hasta la edad adulta, aumentando en gravedad a medida que el individuo envejece (Aycan & Bas, 2014). En la actualidad, la herramienta estándar para la evaluación diagnóstica de SPW es la detección genética (McCandless, 2011); sin embargo, para justificar las pruebas genéticas, es necesario el diagnóstico clínico del síndrome.

Se considera una frecuencia de las características clínicas, utilizadas en los criterios clínicos diagnósticos de SPW. (Kalsner, 2015).

Tabla 1. Características clínicas, utilizadas en los criterios clínicos diagnósticos de SPW. (Modificada de Kalsner, 2015).

Consistentes (100%)	Frecuentes (80%)	Asociada (10-20%)
Hipotonía	Hipopigmentación	Trastorno del lenguaje
Retraso en el desarrollo psicomotor (RDPM).	Trastorno de conducta	Autismo
Dificultad para la alimentación	Talla baja	
Hipogonadismo	Facies característica	
Obesidad	Trastornos del sueño	
Hiperfagia	Manos y pies pequeños	

Hipotonía y función neurológica anormal

Es de origen central, esta presente en el 100% de los pacientes con SPW y se considera el primer dato clínico de inicio prenatal y generalmente se manifiesta como disminución del movimiento fetal, posición fetal anormal en el momento del parto y mayor necesidad de parto asistido o cesárea. En la infancia, hay disminución del movimiento y letargo con disminución de la excitación espontánea, llanto débil y reflejos pobres, acompañada de dificultad para la succión o succión pobre en el 95% de los casos, que conduce a dificultades de alimentación temprana y un aumento de peso pobre durante el primer año. La hipotonía mejora con la edad y se mantiene persistente entre leve a moderada durante toda la vida. La alimentación asistida a través de un tubo de alimentación y / o pezones especiales con tiempos de alimentación aumentados son característicos. (Cassidy & Driscoll, 2012).

Figura 1. Hipotonía de la infancia en un paciente de un mes con SPW. (Tomada de Cassidy & Driscoll 2009)

Retraso en el desarrollo psicomotor y discapacidad intelectual

El desarrollo psicomotor retrasado está presente en el 90-100% de los niños con SPW, con hitos iniciales promedio alcanzados a aproximadamente el doble de la edad normal. Los hitos del lenguaje también suelen retrasarse. Las pruebas psicométricas indican que la mayoría de las personas con SPW caen en el rango

de discapacidad intelectual leve (cociente intelectual [CI]: 60-70), con aproximadamente 40% con inteligencia límite o baja normal y aproximadamente 20% con discapacidad intelectual moderada. La mayoría de los niños con SPW tienen múltiples discapacidades graves de aprendizaje y un rendimiento académico deficiente para sus habilidades mentales. (Cassidy & Driscoll, 2012).

Hiperfagia y obesidad.

La obesidad generalmente comienza entre 1-4 años. En la infancia posterior, comienza un apetito aparentemente insaciable (hiperfagia). La hiperfagia es de origen hipotalámico, lo que da como resultado una falta de sensación de saciedad. Estos son dependientes de la edad del paciente, y se consideran siete diferentes fases nutricionales a través de las cuales los individuos con SPW generalmente progresan (Tabla 2).

Tabla 2. Fases nutricionales de acuerdo a edad de los pacientes con SPW. Modificada de Am J Med Genet A. (Cassidy et al, 2012).

<i>Fases</i>	Media de edades	Características clínicas
<i>0</i>	Prenatal al nacimiento	Disminución de los movimientos fetales y menor peso al nacer que hermanos.
<i>1a</i>	0-9 meses	Hipotonía con dificultad para alimentar y disminución del apetito
<i>1b</i>	9-25 meses	Mejora de la alimentación y el apetito y crecimiento adecuado
<i>2a</i>	2.1-4.5 años	Aumento de peso sin aumento de apetito o exceso de calorías.
<i>2b</i>	4.5-8 años	Aumento del apetito y calorías, pero puede sentirse lleno.
<i>3</i>	8 años a la adultez	Hiperfagico, rara vez se siente lleno.
<i>4</i>	Adultez	El apetito ya no es insaciable

El comportamiento de búsqueda de alimentos, el acaparamiento o la búsqueda de alimentos, el consumo de comestibles y el robo de alimentos o dinero para comprar alimentos son comunes. En la mayoría, el vaciamiento gástrico se retrasa y los vómitos son raros. La obesidad resulta de estos comportamientos y de un menor requerimiento calórico total. (Butler, et al, 2007).

La obesidad en SPW es principalmente central (abdomen, glúteos y muslos) en ambos sexos, y curiosamente hay menos grasa visceral en individuos obesos de lo que se esperaría para el grado de obesidad. (Goldstone AP, Thomas EL, Brynes AE, et al, 2001). La obesidad y sus complicaciones son las principales causas de morbilidad y mortalidad.

Figura 2. Obesidad central de SPW en (a) una niña de 2 ½ años y (b) un varón de 21 años. (Cassidy et al, 2009).

Aunque se ha estudiado las moléculas de las señales periféricas del centro de saciedad, reguladoras de la misma, como la grelina, péptido pancreático, amilina, péptido YY, GLP-1, colecistocinina y

factor neurotrófico derivado de cerebro, no se ha podido documentar anomalías hormonales y la correlación metabólica para explicar la hiperfagia. (Cassidy et al, 2012).

Características faciales

Las características faciales características incluyen dolicocefalia, el diámetro bifrontal estrecho, las fisuras palpebrales en forma de almendra, el puente nasal estrecho y el bermellón superior delgado con comisuras labiales dirigidas hacia abajo (Figura 3). Estos pueden o no ser evidentes en el nacimiento y evolucionan lentamente con el tiempo. Las manos son delgadas con una protuberancia cubital hipoplástica, y en los niños pequeños, la dorsa de la palma y los dedos pueden estar hinchados y los dedos pueden aparecer cónicos. La hipopigmentación del cabello, los ojos y la piel es común en sujetos con una delección debido a la pérdida concomitante de una copia del gen OCA2. (Tabla 3) (Cassidy et al, 2012).

Figura 3. Fenotipo característico en pacientes con SPW. (Cassidy et al, 2009). (a) Un hombre de 15 años. (b) Una mujer de 41 años. Ambos pacientes con diámetro bifrontal estrecho, los ojos en forma de almendra y ligeramente ascendentes, el puente nasal estrecho y el labio superior delgado.

Tabla 3. Resumen de características fenotípicas de los pacientes de SPW-

Alteraciones endocrinológicas

Estas alteraciones se asocian a la disminución en el número de neuronas productoras de oxitocina en el núcleo periventricular del hipotálamo y otras alteraciones neuroanatómicas, que se asocian a disfunción hipotalámica e hipofisiaria. (Hurren, 2016).

Hipogonadismo hipogonadotrófico

Se presenta en ambos sexos y se manifiesta como hipoplasia genital, desarrollo puberal incompleto e infertilidad en la mayoría de los casos. La hipoplasia genital es evidente en el nacimiento y durante toda la vida.

- Hombres: presentan un pene pequeño (en algunos casos), escroto hipoplásico que es pequeño, mal corrugado y poco pigmentado. La criptorquidia unilateral o bilateral está presente en 80-90% de los hombres.
- Mujeres: hipoplasia genital, con clítoris y los labios mayores y menores pequeños desde el nacimiento. Amenorrea primaria u oligomenorrea en las mujeres adultas.

Presentan adrenarquia prematura y pubertad precoz, en aproximadamente 15-20% en ambos sexos. (Irizarry,2016; Kalsner, 2015; Cassidy & Driscoll, 2012).

Talla baja y deficiencia de hormona de crecimiento

La talla baja puede ser aparente en la infancia, entre un 41 a 50% de los pacientes presentan peso bajo al nacimiento para su edad gestacional, casi siempre la talla baja está presente en la segunda década en ausencia de reemplazo de GH, y la falta de un crecimiento puberal provoca una altura promedio de 155 cm para los hombres y 148 cm para las mujeres, no tratada. Se debe a varios factores, con mayor asociación a la deficiencia hipotálamo-hipofisiario, donde se documenta concentraciones séricas bajas de GH y de IGF1. En su composición corporal tienen mayor masa de tejido adiposo que masa magra. (Tabla 4) (Hurren, 2016; Irizarry, 2016, Cassidy & Driscoll, 2012).

Las manos y los pies crecen lentamente y generalmente están por debajo del quinto percentil a los 10 años. Las mejores prácticas en intervención temprana para SPW incluyen recomendaciones para la terapia de GH. Los bebés con SPW tratados con terapia de GH

tienen mejoras en la circunferencia de la cabeza, altura, IMC, composición corporal (con mejoría de la masa muscular magra y retraso en la acumulación de tejido adiposo), proporciones corporales, adquisición de habilidades motoras gruesas, adquisición del lenguaje y puntajes cognitivos.

La deficiencia de GH también se observa en adultos con SPW, aunque los hallazgos del estudio difieren en la prevalencia en la población adulta. Un estudio encontró que los adultos con SPW debido a la DUP materna tenían una secreción de GH menor que aquellos con delección, aunque estos resultados no se han replicado. (Grugni G, et al, 2011). Varios estudios han documentado la seguridad y eficacia del tratamiento con GH en adultos con SPW sobre la composición corporal y la calidad de vida. (Mogul, et al 2008).

Otros problemas endocrinos

- *Insuficiencia suprarrenal central*

En un estudio, se observó insuficiencia suprarrenal central (IAC) luego de la administración de una sola dosis de metirapona durante una noche en un 60% de los niños con SPW, lo que sugiere que esta

puede ser la causa de la alta incidencia de muerte súbita en esta población. Se sabe que la introducción de la terapia de GH puede precipitar crisis suprarrenales en individuos con insuficiencia suprarrenal incipiente al acelerar el metabolismo periférico de cortisol, lo que puede explicar la correlación entre la incidencia de muerte súbita al inicio del tratamiento con GH y IAC, en individuos con SPW. (Scaroni C, et al, 2008). Sin embargo, dos estudios posteriores han encontrado respuestas normales de cortisol a las pruebas de sinactina de dosis baja y alta, así como a las pruebas de tolerancia a la insulina (Nyunt et al, 2010; Farholt S et al, 2011) por lo que sigue siendo incierto si CAI es un verdadero problema para las personas con SPW. No existe consenso entre los endocrinólogos sobre si la evaluación de CAI debe realizarse en todos los pacientes con SPW o solo en aquellos con síntomas compatibles con insuficiencia suprarrenal. (Cassidy & Driscoll, 2012)

- *Hipotiroidismo*

El hipotiroidismo central, con un valor normal de hormona estimulante de la tiroides y bajo nivel de tiroxina libre, se ha documentado en hasta el 25% de las personas con SPW, con una

edad media de diagnóstico y tratamiento de 2 años (Cassidy & Driscoll, 2012).

- *Discapacidad de tolerancia a la glucosa y diabetes mellitus.*

Hasta el 25% de los adultos con SPW (particularmente aquellos con obesidad significativa) tienen diabetes mellitus no dependiente de insulina con una edad media de inicio de 20 años. (Cassidy & Driscoll, 2012).

Otros hallazgos

- *Alteraciones respiratorias*

Existen anormalidades del sueño bien documentadas e incluyen latencia reducida del movimiento ocular rápido (REM), arquitectura alterada del sueño, desaturación de oxígeno y apnea tanto central como obstructiva. (Festen et al, 2006; Priano L et al, 2006). Se cree que la disfunción hipotalámica primaria es la causa de las alteraciones en la microestructura del sueño y las anomalías en la ventilación durante el sueño, con estudios que muestran bajos niveles de orexina e hipocretina en el líquido cefalorraquídeo y

niveles reducidos de neuronas acetil-colinérgicas en el pedúnculo núcleo pontino tegmental. (Dauvilliers et al, 2003; Nevsimalova et al, 2005; Bruni O et al, 2010; Hayashi et al, 2011). Algunas personas con SPW tienen somnolencia diurna excesiva, que se parece a la narcolepsia, con inicio rápido del sueño REM y disminución de la inestabilidad del sueño no REM. (Bruni O et al, 2010).

- *Alteraciones oftalmológicas*

El estrabismo se ve en 60-70%. (Cassidy & Driscoll, 2012).

- *Alteraciones músculo-esqueléticas*

La displasia de cadera ocurre en aproximadamente 10-20%. La escoliosis, presente en 40-80%, varía en edad de inicio y gravedad. (West LA et al, 2004; Shim JS et al, 2010).

- *Alteraciones inmunológicas*

Hasta 50% de las personas afectadas pueden tener infecciones respiratorias recurrentes. No hay informes de deficiencia inmune en SPW, y el aumento en la infección respiratoria puede estar

relacionado con hipotonía de los músculos respiratorios y, por lo tanto, disminución de la tos. (Cassidy & Driscoll, 2012).

Frecuencia aumentada para presentar: Fracturas óseas causadas por osteopenia, edema y ulceración de las piernas (especialmente en los obesos). Sensación de temperatura alterada Disminución del flujo de saliva. Alto umbral de vómitos Convulsiones (10-20%). (Cassidy & Driscoll, 2012).

- *Trastornos conductuales:*

Presente hasta en el 90% de los pacientes con SPW, esta conducta está basada en comportamiento manipulador, poco flexible, terquedad y compulsividad. Algunos de estos pacientes desarrollan autismo y eventos de psicosis en la vida adulta. (Irizarry, 2016; Kalsner,2015) .

Tabla 4. Diferencias fenotípicas de acuerdo a mecanismo molecular

7. ETIOLOGÍA

El SPW se debe a la pérdida estructural o funcional de la región improntada del cromosoma 15 (15q11.2q13) paterno que comprende de 5 a 7 Mb. Y se han relacionado varios mecanismos genéticos implicados, por lo que se considera una etiología heterogénea. La mayoría de los casos de SPW son el resultado de una deleción de 5-7 Mb en 15q11.2-q13. Esta región es muy compleja y contiene una serie de genes improntados y no improntados (Figura 3). La gran mayoría de las personas con deleciones tienen uno de los dos puntos de corte proximal comunes (BP1 y BP2) y un punto de corte distal (BP3). Esto se debe a la presencia de secuencias repetitivas bajas (LCR) que flanquean la deleción, que puede dar como resultado una recombinación aberrante del segmento durante la meiosis. También en menor frecuencia se asocia a la Disomía uniparental (DUP) materna del cromosoma 15, a las alteraciones en el centro de impronta (CI) y rearreglos cromosómicos estructurales como translocaciones que

involucran la región crítica del SPW. (Poyatos, et al., 2009; Glenn, et al. 1997).

ESTRUCTURA DE LA REGIÓN 15q11.2-q13

La región 15q11.2-q13 se puede dividir aproximadamente en cuatro regiones distintas (Figura 3): (1) una región proximal no improntada entre BP1 y BP2 que contiene cuatro genes expresados biparentalmente; (2) una "región SPW expresada sólo por el padre" que contiene cinco genes codificantes de proteínas (MKRN3, MAGEL2, NECDIN y el SNURF-SNRPN bicistrónico), un grupo de cinco genes snoRNA repetitivos (HBII-436, HBII-13, HBII- 438, HBII-85 y HBII-52) y varios transcritos antisentido (que incluyen el transcrito antisentido para *UBE3A*); (3) una 'región SA' que contiene los genes expresados preferentemente por la madre *UBE3A* y *ATP10A* y (4) una región distal no improntada que contiene un grupo de tres genes del receptor GABA, el gen para el albinismo oculocutáneo tipo 2 (*OCA2*) y el gen *HERC2* . La función exacta de cada uno de estos genes en el fenotipo PWS aún se está dilucidando. Los diversos modelos de ratones creados con genes *knock out* serán útiles para descubrir estas contribuciones. Aunque

no se ha encontrado ninguna alteración genética única que explique todas las características de SPW, algunos pacientes con translocación y deleción han reducido una región "clave" para atribuir gran parte del fenotipo SPW al gen snoRNA HBII-85 (revisado en Sahoo et al).

La correcta expresión de los genes codificados en 15q11-q13 es fundamental para el desarrollo y funcionamiento del Sistema Nervioso Central (SNC). La transcripción de una parte de ellos en el cerebro es uniparental y está regulada por impronta. Los genes *MAGEL2*, *NDN* y *SNURF-SNRPN* se transcriben a partir del alelo paterno; *UBE3A* y *ATP10A* en el alelo materno y tres subunidades del receptor de GABA (*GABRA5*, *GABRB3* y *GABRG3*) y *OCA2* son de expresión bialélica (Hogart A, et al).

Los genes *MAGEL2* y *NDN* se expresan principalmente en cerebro aunque también se ha detectado *MAGEL2* en otros tejidos fetales y *NDN* en la placenta. Los dos codifican proteínas que participan en la diferenciación neuronal.

Más cerca del telómero que *NDN*, se han identificado los genes *PWRN1*, *PWRN2* y *C15orf2*. Los tres se expresan de manera bialélica principalmente en testículo, pero *PWRN1* y *C15orf2* se han observado también en cerebro fetal donde su expresión es

monoalélica, aunque se desconoce si la expresión es materna o paterna.

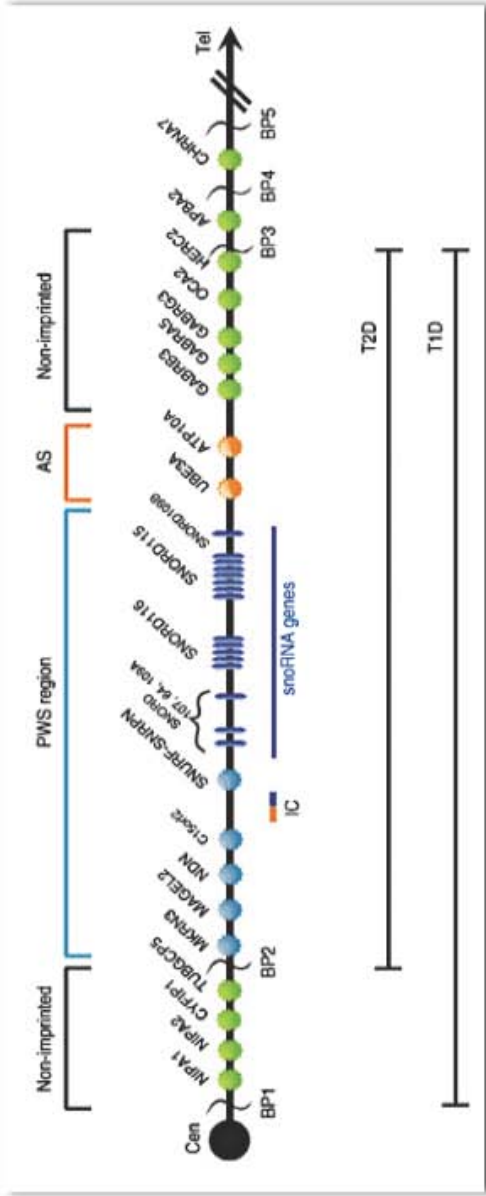


Figura 3: Resumen del mapa genético y de expresión de la región cromosómica 15q11.2-q13.

La región del síndrome de Prader-Willi (PWS) (que se muestra en azul) tiene cinco genes únicos copiados exclusivamente por el padre (región PWS) que codifican polipéptidos (MKRN3, MAGEL2, NECDIN y SNURF-SNRPN) y una familia de seis genes de snoRNA expresados. Solo UBE3A y ATP10A (mostrados en naranja), relacionados con el síndrome de Angelman (AS), tienen una expresión preferencial exclusivamente materna, y esta expresión improntada está limitada a ciertas regiones específicas del tejido (específicamente el cerebro). El centro bipartito de impronta (IC) se encuentra proximal al gen biclástico SNURF-SNRPN y dentro de la región improntada de 2.5 Mb PWS / AS. El grupo de genes del receptor GABA (GABRB3, GABRA5 y GABRG3), OCACZ (albinismo de tipo III) y HERC2 no están improntados y tienen expresión biparental (se muestra en verde). Las líneas verticales dentadas denotan los tres puntos de corte en deleciones de PWS y AS comunes de 5 a 6 Mb, BP1, BP2 y BP3. En raras ocasiones, habrá un punto de ruptura distal en BP4 o BP5. Entre BP1 y BP2 se encuentran cuatro genes adicionales no improntados, NIPAL1, NIPAL2, CYFIP1 y GCP5. Las deleciones de tipo 1 (T1D) se extienden de BP1 a BP3, y las deleciones de tipo 2 (T2D) se extienden de BP2 a BP3. Tenga en cuenta que hay más copias de los genes SNORD116 y SNORD115 que las que se muestran, y el mapa no se ha dibujado con precisión a escala.

El locus SNURF-SNRPN del cromosoma 15 es uno de los más complejos del genoma humano. Es un gen bicistrónico que codifica dos proteínas [Perk J, Makedonski, et al, 2002]: *SNRPN upstream reading frame* (SNURF), de función desconocida y *small nuclear ribonucleoprotein complex* (SNRPN), que pertenece a la familia snRNP SMB/SMN, se expresa fundamentalmente en cerebro y participa en el procesamiento de pre-mRNAs específicos de dicho tejido [Libov A, Maino M, et al, 1994]. En el extremo 5'UTR de este gen se encuentra el Imprinting Center (IC), necesario para mantener la expresión monoalélica del locus [Erdel M et al, 1996].

Entre *SNRPN* y *UBE3A* se han identificado una serie de transcritos (PAR-SN, PAR-5, PAR-7, IPW, PAR-1 y PAR-5) que no codifican ninguna proteína y a los que se atribuyen funciones reguladoras aún no bien definidas. Sin embargo, en los intrones de estos genes está codificado un cluster de small nucleolar RNAs (snoRNAs): HBII-436, HBII-13, HBII-437, HBII-438A, HBII-85 y HBII-52, que modifican a otros RNAs y podrían ser la parte funcional de estos transcritos [Camprubi C, Coll MD, et al, 2007]. El gen *UBE3A* codifica una E3 ubiquitin-protein ligase [Butler MG et al 2004; Robinson WP, et al 1998; Gillessen-Kaesbach, et al, 1995] y *ATP10A* a una translocasa encargada del transporte de fosfolípidos, que se ha especulado podría participar en la señalización del SNC [Butler MG, et al 2004;

Robinson WP, et al 1998]. Ambos genes se expresan en otros tejidos además del cerebro, pero sólo en este su expresión está regulada por imprinting [Perk J, et al 2002; Libov A, et al, 1994].

Fuera del dominio improntado se encuentran tres subunidades del receptor de GABA (GABRA5, GABRB3 y GABRG3), el mayor inhibidor de la neurotransmisión en el cerebro humano [Butler MG, et al, 2007]; y el gen OCA2, también llamado gen P, que codifica una proteína integral de membrana de los melanocitos, actúa como transportador de tirosinas y es importante para la pigmentación [Goldstone AP, et al, 2001; Grugni G, et al, 2011].

Los snoRNAs codificados en 15q11.2 (HBII-436, HBII-13, HBII-437, HBII-438A, HBII-85, HBII-52 y HBII-438B) tienen el dominio C/D y son de especial interés debido a: a) se expresan principalmente en cerebro; b) existen 3 copias en tándem de HBII-13, 24 de HBII-85, y 47 copias igualmente organizadas de HBII-52 en la región 15q11.2, mientras que sus homólogos en ratón aparecen en 1, 15 y 17 copias respectivamente; c) los tres snoRNAs específicos de cerebro no tienen ninguna región complementaria a ningún snRNA, rRNA u otros RNAs no codificantes conocidos, pero sí presentan al menos 14-15 nt complementarios a algún mRNA. Concretamente 18 nt de

HBII-52 son complementarios al mRNA de receptor de serotonina (5-HT_{2C}) [Festen DA, et al, 2006]. La región de interacción de este mRNA con HBII-52 es de particular interés ya que posee dos sitios susceptibles de modificaciones: splicing alternativo y desaminación de una adenina, transformando esta base en inosina [Priano L, et al, 2006; Dauvilliers Y, et al, 2003]. Por splicing alternativo se pueden generar dos isoformas de 5-HT_{2C}, una inactiva y trunca que sólo contiene el exón Va y otra activa que incluye a Va y Vb. Se ha comprobado MBII-52 (el homólogo a HBII-52 en ratón) participa en el splicing del mRNA [Nevsimalova S, et al, 2005]. La segunda modificación es más frecuente en cerebro que en otros tejidos [Bruni O, et al, 2010] y es facilitada por la metilación de una ribosa [Hayashi M, et al, 2011]. En el caso de 5-HT_{2C} la modificación implica una disminución de la actividad del receptor y sólo queda por demostrar si MBII-52 interviene en dicha modificación. Las peculiaridades de los snoRNAs de la región 15q11.2 sugieren que han podido tener un papel importante en la evolución y función del cerebro humano, que aún queda por descubrir y puede ser relevante para explicar las alteraciones neurológicas y del comportamiento en SPW.

Mecanismos genéticos de SPW.

En el SPW existe heterogeneidad en los mecanismos genéticos que lo produce (Figura 1). La causa más frecuente es la microdelección entre el 65-75%, seguida de la DUP materna del cromosoma 15 en 20-30% de todos los casos; las alteraciones relacionadas CI, están presentes hasta un 5%, y el resto considerando rearrreglos cromosómicos balanceados y desbalanceados, con puntos de ruptura en la región 15q11.2-q13 que involucre a la región crítica de SPW. Por lo tanto, se consideran causas genéticas y epigenéticas para el desarrollo de esta patología.

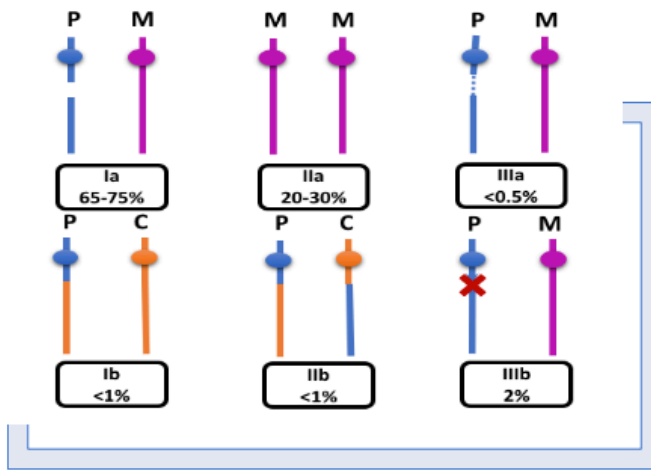


Figura 4
Mecanismos genéticos de SPW.

Síndrome de Prader Willi asociado a desordenes genómicos.

Descritos de 1998 por Lupski, se consideran enfermedades que se generan a partir de rearrreglos estructurales en ciertas regiones cromosómicas debido a la inestabilidad genómica. Esto a su vez, provoca un desequilibrio en la dosis génica de uno o varios genes, y predisponen a susceptibilidad para generar variaciones estructurales, deleciones, inversiones, duplicaciones o amplificaciones, que son asociadas a enfermedad. (Lupski,2016). Existen repetidos con bajo número de copias (LCR), estos son secuencias de DNA repetidos en una región cromosómica específica, de aproximadamente 50-200 pares de bases hasta Mb (megabases). Estos repetidos comparten alta grado de homología en su secuencia de DNA, la cual genera un mal apareamiento de estas secuencias durante la meiosis y por tanto predisponen a la recombinación homóloga no alélica entre ellas, así como un desequilibrio en el intercambio de material genético, como consecuencia generan un rearrreglo cromosómico o variaciones estructurales con o sin variaciones en el número de copias (CNVs , *copy number variation*). (Carvalho & Lupski, 2016). Por tanto, se considera que la arquitectura genómica es un factor predisponente para los rearrreglos cromosómicos, hasta el 23% de las deleciones o

duplicaciones que están relacionados con alguna enfermedad. (Rimoin, Pyeritz & Korf, 2013).

Las deleciones que ocurren en esta región, (denominada “región crítica de SPW/SA” o PWACR), producen fenotipos SPW o SA (Síndrome de Angelman), mientras que duplicaciones producen fenotipos MD15q11-q13.5. (Libov A, Maino 1994). El cromosomas 15 es considerado como uno de los cromosomas que presentan más duplicaciones segmentarias, ya que esta región se encuentra flanqueada por LCRs que comparten similitud de sus secuencias del 90-99%. Esto explicaría uno de los mecanismos genéticos relacionados con esta enfermedad de hasta el 75%, y a las deleciones intersticiales que comprometen entre el 5 al 7% de la secuencia. (Cassidy & Driscoll, 2009; Moore & Best, 2001).

Los mecanismos por los cuales se produce un desbalance en el número de copias metiladas, son varios:

1. Los que se producen por una variación en el número de copias (CNV), que incluyen deleciones, duplicaciones intersticiales, translocaciones cromosómicas y formación de cromosomas isodicéntricos; (Laurito & Roqué, 2018).

La región 15q11-q13 es proclive a sufrir CNVs debido a que presenta 5 puntos de ruptura canónicos (del inglés breaking points o BP). Estos sitios BP canónicos están integrados por el gen *HERC2* (correspondiente al BP3), los pseudogenes de *HERC2* (correspondientes a los BP1, BP2, BP4 y BP5), y a repeticiones de bajo número de copias (LCR). Debido a la homología entre estas secuencias, un mal alineamiento entre los LCRs de cromosomas homólogos produce una recombinación no alélica entre ellos durante la meiosis, lo que resulta en una pérdida o ganancia de material genético. (Laurito & Roqué, 2018).

Disomia uniparental

La DUP materna del cromosoma 15 se refiere a la herencia del par de cromosomas homólogos o de una región cromosómica de un solo progenitor, en este caso el de origen materno. (Nicholls RD, et al., 1989; Yamazawa K, et al., 2010). Este mecanismo representa aproximadamente el 20-30% de la causa de SPW. Se ha demostrado que la DUP materna está asociada con la edad materna avanzada. (Miller JL, et al., 2011; Gillissen-Kaesbach G, et al., 1995; Cassidy SB, et al., 1997).

Esta DUP se genera en un proceso de dos pasos:

1. Primero, hay un evento materno no disyuntivo que resulta en un óvulo disómico para el cromosoma 15.
2. Después de la fertilización con un espermatozoide normal, la trisomía 15 resultante en el blastocisto es letal a menos que un segundo evento produzca una célula hija que ha perdido uno de los tres cromosomas 15 llamado "rescate trisómico". y el SPW resulta cuando se pierde el único cromosoma 15 paterno, dejando dos cromosomas 15 maternos. (Cassidy SB, Lai LW, Erickson RP, et al., 1997; Purvis-Smith SG, et al, 1992).

Otros mecanismos también podrían conducir a DUP, pero parecen ser mucho menos comunes en SPW.

- Una línea celular nulisómica con solo cromosoma 15 materno también podría resultar de la no disyunción, y un segundo evento podría resultar en la duplicación de este cromosoma ("rescate de monosomía"). En este caso, todos los genes serían idénticos en ambos alelos (isodisomía), y existe un riesgo de duplicación de un gen nocivo además de la región SPW.

- Un error posterior a la fecundación (por recombinación somática o conversión génica), complementación gamética y reemplazo somático de un cromosoma 15 derivado.
- La trisomía asociada con las translocaciones Robertsonianas también puede resolverse a disomía a través de la pérdida de un cromosoma 15 y dar lugar a DUP en el 50% de los casos.
- La DUP también se puede asociar con pequeños marcadores supernumerarios del cromosoma 15, y tanto la DUP 15 materna como la paterna se han identificado a partir de esta situación, aunque la materna es más común. (Liehr T, Brude E, Gillissen-Kaesbach G, et al, 2005). El origen parental de estos pequeños marcadores es frecuentemente desconocido debido a su tamaño y la falta de material genético único. Se ha estimado que aproximadamente el 5% de los marcadores supernumerarios pequeños están asociados con DUP.

Defectos de impronta

Representa aproximadamente el 1-3% de las personas con SPW. La mayoría de las identificaciones son el resultado de causas

epigenéticas (epimutaciones) y demuestran un patrón de metilación del DNA exclusivamente materno a pesar de la presencia de ambos alelos parentales (es decir, herencia biparental). Los cambios en la secuencia de DNA no se encuentran en estas epimutaciones, y se cree que son errores aleatorios en el proceso de impronta durante la espermatogénesis de los padres (Glenn CC, et al., 1997) o en la embriogénesis temprana en los casos raros de mosaicismo somático. (Buiting K, 2016). Sin embargo, aproximadamente el 15% de las personas con un DI (defecto de impronta) tienen una deleción muy pequeña (7,5 a > 100 kb) en la región CI ubicado en el extremo 5' del gen y promotor SNRPN. (Cassidy, et al., 2012) (Figura 5).

ALELO MATERNO

ALELO PATERNO

Figura 5. Centro de control regional de SPW/SA (Tomada de Rougeulle, C., & Heard, E., 2002).

Figura 5. Locus *UBE3A / UBE3A-ATS*. Se expresan los alelos derivados de la madre *UBE3A* y *ATP10C*, pero los genes *UBE3A (UBE3A-ATS)*, *SNURF / SNRPN*, *MKRN3*, *NDN* y *MAGEL2* se encuentran metilados y *CI* corriente arriba del promotor *SNRPN* está metilado (asteriscos). Se expresan los genes paternos *MKRN3* corriente arriba, *NDN* y *MAGEL2*, *UBE3A-ATS*. *C15orf2*, no está sujeto a impronta. (Tomada de Rougeulle, C., & Heard, E., 2002).

Relación genotipo-fenotipo en el SPW

No se conocen características que ocurran exclusivamente en individuos con cada mecanismo genético. Sin embargo, hay algunas diferencias en la frecuencia o severidad de algunas, de acuerdo a al mecanismo (deleción 15q11.2-q13 y DUP).

- Las personas con DUP tienen menos probabilidades de tener la hipopigmentación, (Gillessen-Kaesbach G, et al, 2010; Butler MG, 1989) características típicas de la apariencia facial, (Cassidy SB, Forsythe, et al, 1997; Gillessen-Kaesbach G, et al, 1995) o la habilidad con los rompecabezas. (Dykens EM, et al, 2002).
- En la mayoría de los estudios, aquellos con DUP tienen un Coeficiente intelectual verbal algo mayor y problemas de conducta más leves. Sin embargo, la psicosis y los trastornos

del espectro autista ocurren con una frecuencia mayor entre aquellos con DUP. Se ha informado que las personas con las deleciones de tipo 1 levemente más grandes (BP1-BP3) tienen más compulsiones y un menor comportamiento adaptativo, capacidad intelectual y rendimiento académico que aquellas con deleciones de tipo 2 (deleciones BP2-BP3). (Cassidy & Driscoll, 2012).

6. DIAGNÓSTICO DIAGNÓSTICO CLÍNICO

El diagnóstico del SPW es clínico, pero la historia natural de la enfermedad y el desarrollo de las manifestaciones dificulta el diagnóstico en etapas iniciales, los criterios clínicos del consenso de 1993 de Holm et al (tabla 6) continúan siendo útiles para los especialistas clínicos. Sin embargo, permiten identificar características SPW en niños mayores de 6 años, lo que impide un abordaje multidisciplinario oportuno. La confirmación del diagnóstico requiere pruebas genéticas moleculares.

Tabla 6. Criterios de Holm (Holm, Cassidy SB, Butler MG, et al 1993).

Criterios de Holm (1993)
Criterios mayores:
1. Hipotonía central neonatal e infantil con mala succión, mejorando gradualmente con la edad.
2. Problemas de alimentación en la infancia con la necesidad de técnicas especiales de alimentación y pobre aumento de peso / falta de crecimiento
3. Ganancia de peso excesiva o rápida de peso por longitud (excesivo se define como superior a 2 percentiles) después de 12 meses pero antes de los 6 años de edad; obesidad central en ausencia de intervención
4. Rasgos faciales característicos con dolicocefalia en la infancia, cara estrecha o diámetro bifrontal, ojos en forma de almendra, boca pequeña con labio superior delgado, comisuras labiales dirigidas hacia abajo (se requieren 3 o más).
5. Hipogonadismo - con cualquiera de los siguientes, dependiendo de la edad.
<ul style="list-style-type: none"> a. Hipoplasia genital, b. Masculinos: hipoplasia escrotal, criptorquidia, pene pequeño y / o testículos para la edad (percentil 5), Maduración gonadal tardía o incompleta con signos puberales retardados en ausencia de intervención después de los 16 años de edad (varones: gónadas pequeñas, vello facial y corporal disminuido, falta de cambio de voz, c. Femenino: ausencia o hipoplasia grave o labios menores y / o clítoris. Maduración gonadal tardía o incompleta con signos puberales retardados en ausencia de intervención después de los 16 años de edad en mujeres: amenorrea / oligomenorrea después de los 16 años).
6. Retraso global del desarrollo en un niño de 6 años de edad; retardo mental leve o moderado o problemas de aprendizaje en niños mayores
7. Hiperfagia / alimentación de alimentos / obsesión por los alimentos.
8. Supresión 15q11-13 en alta resolución (650 bandas) u otra anomalía molecular citogenética del cromosoma de Prader-Willi región, incluida la disomía materna
Criterios menores

1. Disminución del movimiento fetal o letargo infantil o llorar débil en la infancia, mejorando con la edad
2. Problemas característicos del comportamiento: berrinches, explosiones violentas y comportamiento obsesivo-compulsivo; tendencia a ser argumentativo, opositorista, rígido, manipulador posesivo y obstinado; perseverar, robar y mentir (5 o más de estos síntomas requeridos)
3. Trastornos del sueño y apnea del sueño
4. Estatura baja para el fondo genético antes de los 15 años (en ausencia de intervención de la hormona del crecimiento)
5. Hipopigmentación: piel y pelo justos en comparación con la familia
6. Manos pequeñas (percentil 25) y / o pies (percentil 10) para la edad de la talla.
7. Manos estrechas con bordes ulnares rectos
8. Anomalías oculares (exotropía, miopía)
9. Saliva espesa y viscosa con costras en las esquinas de la boca
10. Defectos de la articulación del habla
11. Recolección de la piel
Conclusiones de apoyo
1. Alto umbral de dolor
2. Disminución del vómito
3. Inestabilidad de la temperatura en la infancia o alteración de la sensibilidad a la temperatura en niños mayores y adultos
4. Escoliosis y / o cifosis
5. Adrenalina temprana

6. Osteoporosis
7. Habilidad inusual con puzles (rompecabezas)
8. Estudios neuromusculares normales
Para puntuar, los criterios principales se ponderan en 1 punto cada uno, y los criterios menores se ponderan en ½ punto cada uno. Los hallazgos de apoyo aumentan la certeza del diagnóstico, pero no se califican. Para niños de 3 años de edad o menos, se requieren 5 puntos, de los cuales 4 deben provenir del grupo principal. Para niños de 3 años de edad y para adultos, se requiere un puntaje total de 8 y los criterios principales deben incluir 5 o más puntos de la puntuación total.

En la actualidad se utilizan criterios clínicos revisados para realización de pruebas moleculares confirmatorias. Estos fueron propuestos por Gunay-Aygun et al. (2001) (tabla 7), considerando cualquier paciente con hipotonía al nacimiento, deterioro cognitivo (por lo general déficit intelectual leve), actitud compulsiva sin sociabilidad acompañado de obesidad central e hipogonadismo hipotalámico, y/o comportamientos típicos, incluyendo rabietas y características obsesivo-compulsivas, debe ser referido para su estudio. La prueba diagnóstica inicial del SPW es el análisis de metilación de DNA de la región 15q11.2q13, ya que detecta la gran mayoría de los pacientes.

Tabla 7. Tabla de criterios clínicos para realización del estudio molecular del síndrome de Prader-Willi.

Edad de presentación:	Característica clínica:
Nacimiento a los 2 años de edad.	1. Hipotonía con pobre succión.
2 años a 6 años.	1. Hipotonía con historia de pobre succión.
	2. Retraso global del desarrollo.
6 años a 12 años.	1. Hipotonía con historia de pobre succión. (persistencia de hipotonía).
	2. Retraso global del desarrollo.
	3. Conducta de alimentación excesiva. (hiperfagia, obsesión por la comida, etc.) con obesidad central de difícil control.
13 años a edad adulta.	1. Déficit intelectual, retraso mental moderado.
	2. Conducta de alimentación excesiva. (hiperfagia, obsesión por la comida, etc.) con obesidad central de difícil control.
	3. Hipogonadismo hipotalámico, y/o problemas en el comportamiento (incluidos berrinches o rabietas y características obsesivas compulsivas)

Se propone como algoritmo para confirmar el mecanismo genético de SPW. [Cassidy et al 2012]. (Tabla 8)

Tabla 8. Algoritmo para pruebas genéticas para el síndrome de Prader-Willi (SPW) Modificado de Genetics in Medicine. ISSN 1530-0366 (online).

<https://www.nature.com/articles/gim0b013e31822bead0/figures/5>

DIAGNÓSTICO GENÉTICO

El diagnóstico de SPW se establece en un probando con análisis de metilación del DNA que demuestra una impronta anormal específica del padre dentro de la región crítica de Prader-Willi (RCPW) en el cromosoma 15 en la cual la región demuestra impronta materna solamente (es decir, la ausencia de genes expresados paternos). (Tabla 9 y 10). [Cassidy et al 2012].

Tabla 9. Métodos diagnósticos de SPW.
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1330/>)

Método de prueba	Mecanismos Genéticos Detectados	Proporción de PWS detectada por el método de prueba
<u>Metilación del DNA</u> ¹	Deleciones, DUP & DI	> 99%
MS-MLPA ²	Deleciones, DUP & DI	> 99%
FISH ³	Deleciones	65% -75%
CMA ⁴	Deleciones	65% -75%
CMA- SNP array ⁵	Deleciones y algunas DUP	80% -90%

Polimorfismos de DNA ⁶	DUP e DI	20% -30%
Secuencia de DNA ⁷	DI con deleciones de CI.	<1%
<p>DUP= disomía uniparental DI = defecto de impronta CI= centro de impronta</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Puede establecer un diagnóstico, pero no distinguirá el mecanismo genético; puede realizarse por Southern blot o PCR alelo-específico sensible a metilación. 2. Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples específica de metilación (MS-MLPA): <ul style="list-style-type: none"> • Se distinguirá la deleción de disomía (DUP y DI); • No distinguirá DUP y DI. • Puede dar un tamaño aproximado de deleción e identificar deleciones de tipo 1 y 2. • También puede detectar la mayoría de microdeleciones CI y SNORD116. 3. FISH normalmente se realiza junto con un cariotipo . La información está limitada a la región SA / SPW y a las sondas específicas utilizadas. El FISH no detecta toda la región AS / PWS y no detectara pequeñas deleciones. No proporciona información sobre el resto de los cromosomas, y no distingue entre normal, DUP y DI. 4. Microarreglos cromosómicos (CMA) tiene una tasa de detección ligeramente más alta que FISH y proporcionará información detallada sobre el tamaño de la deleción. Además, proporciona información sobre deleciones y duplicaciones en el resto del genoma. CMA es mucho más preciso que el cariotipo y FISH; detectará microdeleciones SNORD116. 5. Igual que CMA; Además, el uso de variantes de un solo nucleótido (SNV) permitirá la detección de DUP en casos con regiones largas de homocigosidad. 6. No es una prueba de primera línea; se realiza después de que el análisis de metilación del DNA diagnostica SPW, pero el análisis FISH o CMA indica disomía. 7. La secuenciación del DNA tiene un papel muy específico en los DI para distinguir las deleciones CI de las epimutaciones. Está limitado a una región de <4.3 kb en la región más pequeña de superposición de deleción (SRO) de CI SPW. 		

Tabla 10. Tabla de Estudios moleculares para el Diagnóstico de SPW.

Método diagnóstico	Detección de mecanismos genéticos	Usos y limitaciones
Metilación de DNA	Delección, DUP y DI	Identificará > 99% de PW. No distinguirá la clase molecular. Se puede hacer por Southern blot o PCR-SM.
MLPA-SM	Delección, DUP y DI	Identificará > 99% de PW y distinguirá delección de DUP. Detecta cinco sitios de metilación específicos para padres. No distinguirá DUP de DI. Puede dar un tamaño aproximado de delección e identificar delección de tipo 1 y tipo 2. Los kit más nuevos detectan la mayoría de microdelecciones CI y SNORD116
Cariotipo de alta resolución	Delecciones mas típicas	Puede detectar la mayoría de las delecciones pero requiere un técnico experimentado. No debe usarse solo porque perderá algunas delecciones, y el análisis FISH es mucho más sensible. No distinguirá normal, DUP e DI.
FISH	Casi todas las delecciones	Identificará el 65-75% de PW. Por lo general, se realiza junto con el cariotipo. La información está limitada a la región / SPW y a las sondas específicas utilizadas (p. ej., SNRPN). No abarca toda la región y perderá pequeñas delecciones. No proporciona información sobre el resto de los cromosomas y no distingue entre normal, DUP e DI.
Polimorfismos DNA	DUP y DI	No es una prueba de primera línea. Se realiza después del análisis de metilación de dNa que revela PW, cuando el análisis de FISH o CMA sugiere DUP.
CMA-hibridación comparativa genómica	Delecciones	Similar a FISH, identificará el 65-75% de PW. Sin embargo, dará muy buena información con respecto al tamaño de la delección si se utiliza una matriz de oligo (frente a BaC), también, proporciona información sobre delecciones y duplicaciones en el resto del genoma. Mucho más preciso que los cromosomas y FISH, y es generalmente más costoso.
CMA-SNP array	Delecciones y algunas DUPs.	Al igual que la hibridación genómica comparada con CMA (arriba) permitirá la detección de DUP en casos con regiones largas contiguas de homocigosidad.
Secuencia de DNA	Delección del CI	Tiene un rol muy específico en los identificadores para distinguir las delecciones de CI de las epimutaciones. Limitado a una región de <5kb en PWs CI SRO.

SA: Síndrome de Angelman; BaC, cromosoma bacteriano artificial; CMA: microarreglo cromosómico; FISH, hibridación fluorescente in situ; CI, centro de impronta;
 DI: defecto de impronta; MLPA-SM, Amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples metilación-específica; PCR-SM, Reacción en cadena de polimerasa específica de metilación; SPW, síndrome de Prader-Willi; SNP, polimorfismo de un solo nucleótido; SRO, la región más pequeña de superposición; DUP, disomía uniparental.

7. MANEJO Y SEGUIMIENTO DE PACIENTES CON SPW

De acuerdo a la evolución, crecimiento y desarrollo de los pacientes con SPW, se sugieren valoración de acuerdo a edad. (Tabla 11). Un objetivo fundamental en el manejo del síndrome de Prader-Willi radica en controlar la obesidad y su comorbilidad en los individuos que lo padecen mediante cinco diferentes tipos de intervenciones que se consideran complementarias y forman parte del abordaje integral de los pacientes:

- A. Tratamiento farmacológico. En este caso el tratamiento de predilección es suministrar la hormona de crecimiento (somatotropina) recombinante humana que se utiliza como terapia sustitutiva permitiendo un aumento significativo en la altura, la velocidad de crecimiento y una disminución en el porcentaje de grasa corporal. Su eficacia mejora cuando su administración se inicia antes de los tres años de vida. (Grugni G, et al, 2018) Su empleo está contraindicado en pacientes con infección del tracto respiratorio relativamente leve, apnea del sueño, hipertrofia de amígdalas, hipoventilación, aspiración respiratoria y apnea derivada de la misma obesidad, debido a que la hormona de

crecimiento acelera estas condiciones preexistentes ocasionando muerte súbita sobre todo en niños. (Angulo m, et al, 2015)

- B. Manejo nutricional. Es importante que el ambiente alimentario de los pacientes con SPW sea saludable y restringir el acceso a más comida de la recomendable, como resultado de su tendencia a la hiperfagia, se requiere que los alimentos sean supervisados y limitados de acuerdo con las necesidades dietéticas del paciente. En todos los casos es recomendable el seguimiento por parte de nutriólogos expertos. (IMSERSO, Grugni g, et al, 2018)
- C. Los hábitos saludables en cuanto a las conductas sedentarias y el ejercicio físico pueden ser moldeados desde etapas muy tempranas por parte de la familia, ello aporta reducir la debilidad muscular y la adiposidad. (Bar C et al, 2017; Cassidy SB, et al, 1997)
- D. Orientación psicoemocional. Cada etapa de la vida para los individuos con síndrome de Prader-Willi implica distintos retos sociales y conductuales, mismos que pueden complicarse ante su predisposición nata a la ansiedad, agresividad y dificultad para desenvolverse en sociedad, por lo que la orientación psicológica y psiquiátrica se vuelven

una necesidad dependiendo de la severidad con la cual se presenten dichos trastornos, aun cuando no existen en la actualidad guías precisas para su manejo en pacientes con SPW. (Kubota T, et al, 1997; Goldstone A, et al, 2008; Cassidy SB, et al, 1997).

- E. Manejo quirúrgico. La razón por la cual los pacientes con síndrome de Prader-Willi no pueden bajar de peso por sí solos con una simple dieta es porque están condicionados por la hiperfagia y resulta complicado tener que luchar contra la naturaleza de la enfermedad, por ello para lograr una reducción de peso evidente, el régimen hipocalórico estricto se acompaña de cirugía bariátrica como el bypass yeyuno ileal o la gastrectomía subtotal que ha mostrado resultados satisfactorios en la disminución de peso. (Santoro SL, et al, 2017).
- F. Ya que un 80% de los niños con SPW presentan criptorquidia, hipogonadismo y cáncer testicular, es importante considerar la intervención quirúrgica durante los primeros meses de vida. (Goldstone A, et al, 2008)
- G. Manejo de complicaciones y comorbilidad. La apnea del sueño a consecuencia de la obesidad suele requerir un manejo específico y ser abordada por especialistas del área

de la neumología. La saliva pegajosa y la hipertrofia obstructiva amígdalo-adenóidea suelen ser elementos que se tratan abordan por parte de endocrinología 24. Las alteraciones ortopédicas, principalmente en articulaciones y desviaciones de la columna vertebral, suelen requerir manejo ortopédico y fisioterapéutico. Las alteraciones oftalmológicas suelen ser comunes, por lo cual se recomiendan revisiones periódicas y manejo específico de las alteraciones visuales una vez detectadas. Finalmente, la salud bucal suele estar afectada por los hábitos alimentarios de los pacientes y la deficiencia en la producción de saliva propia del síndrome, por lo que las medidas preventivas no deben ser subestimadas. (Angulo M, et al, 2015).

Tabla 11. Seguimiento y manejo sugerido de pacientes con SPW (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1330>)

Categoría	Evaluación	0-3 meses	3-24 meses	2-12 años	Adolescentes y adultos
Alimentación, peso y crecimiento	Evaluar la capacidad de alimentación y la necesidad de alimentación por sonda u otra alimentación asistida.	*	*		
	Mida y trace el peso y el índice de masa corporal.	*	*	*	*
	Llevar a cabo una evaluación nutricional.	*	*	*	*

	Medir y trazar longitud/altura y circunferencia de la cabeza.	*	*	*	*
	Evaluar minuciosamente la dieta, el ejercicio y el estado de supervisión para la prevención de la obesidad; y revisar los planes para evitar/tratar la obesidad.			*	*
	Consulte la endocrinología para la discusión/iniciación de la terapia con hormona de crecimiento.	*	*	*	*
	Evaluar la función tiroidea.	*	*	*	*
	Evaluar para diabetes mellitus tipo II, si la obesidad está presente.			*	*
Desarrollo y función	Evaluación de fisioterapia.	*	*	*	*
	Evaluar habilidades de desarrollo y derivar para intervención temprana.	*	*		
	Llevar a cabo pruebas psicoeducativas y evaluar la adecuación de la programación.			*	*
Comportamiento y Psiquiátrico	Evaluar las habilidades de crianza/cuidador necesarias para PWS.		*	*	*
	Investigue sobre problemas de comportamiento y cómo se manejan. Reforzar la importancia de la configuración del límite. Referir para el tratamiento, si está indicado.		*	*	*
	Obtenga un historial de cambio de personalidad o signos de psicosis o depresión. Referir para el tratamiento, si está indicado				*
Hipogonadismo	Evalúa el descenso testicular. Consulte urología o cirugía para orquidopexia, si no fue descendido.	*	*	*	*
	Considere la necesidad de reemplazar las hormonas sexuales.				*

Esquelético	Evaluar la displasia de cadera	*	*		
	Evaluar clínicamente por escoliosis; obtener radiografías		*	*	*
	Obtener densitometría ósea.				*
Sueño	Obtener el historial de sueño. Consulte para polisomnografía, si sospecha de apnea.		*	*	*
Oftalmológico	Evaluación oftalmológica para estrabismo y agudeza visual.		*	*	*
Dental	Evaluar para la boca seca/saliva fibrosa y referir para el cuidado dental.		*	*	*
Piel	Evaluar cuidadosamente la piel en busca de signos severos de picadura de la piel, edema y descamación de la piel.			*	*
Planeamiento futuro	Las cuestiones de testamentos, fideicomisos, tutela deben abordarse.			*	*

8. ASESORAMIENTO GENÉTICO

El asesoramiento genético, es el proceso mediante el cual, se proporciona a los individuos y familias, información sobre la naturaleza, la herencia y las implicaciones de los trastornos genéticos para ayudarlos a tomar decisiones médicas y personales informadas.

Es importante identificar la causa molecular en los pacientes con diagnóstico de SPW, para poder brindar un asesoramiento genético adecuado. Ya que al ser una entidad con heterogeneidad en los mecanismos moleculares presenta riesgos de recurrencia diferentes para cada uno de ellos (Tabla 5).

La gran mayoría de las familias tienen un riesgo de recurrencia de menos del 1%. Sin embargo, ciertas etiologías implican un riesgo de recurrencia tan alto como el 50%, y un escenario con un riesgo de casi el 100% (es decir, una madre con una translocación de Robertson 15/15), aunque es muy poco probable, es teóricamente posible. (Buiting K., et al, 2010).

Pero para determinar el riesgo de recurrencia es necesario identificar si se trata de una delección, disomía uniparental, mutación de imprinting o reorganización cromosómica.

Aunque la mayoría de los casos ocurren de forma esporádica, algunas familias presentan un riesgo de recurrencia según se comenta a continuación. (Buiting K., et al, 2010).

1. Cuando en la familia hay un individuo afectado, con una deleción, el riesgo de recurrencia teórico es bajo, aproximadamente un 1%. Este porcentaje hace referencia a la posibilidad de una inserción balanceada o un mosaicismo gonadal de la deleción, siendo las translocaciones críticas poco frecuentes.
2. Si en la familia hay un individuo afectado con DUP materna, el riesgo de recurrencia es bajo, un 1%.
3. En caso de mutación de CI el riesgo de recurrencia es alto, de un 50%, puesto que los padres pueden ser portadores de la mutación.
4. En los casos donde se haya observado translocación “de novo” o heredada que afecte al cromosoma 15 o bien un cromosoma 15 marcador puede ser aconsejable realizar estudio de FISH y/o microsatélites. El riesgo estimado dependerá de la naturaleza de la translocación.

*Tabla 12. Riesgos de recurrencia por Mecanismo genéticos de SPW
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1330>)*

Tipos moleculares	Proporción de SPW por clase molecular	Mecanismo Genético	Riesgo de recurrencia
la	65-75%	Deleción intersticial de 5 a 6 Mb 15q11.2-q13	<1%

Ib	<1%	Reordenamiento cromosómico desbalanceado	Posiblemente tan alto como 50%
Ila	20% -30%	DUP materna	<1%
Ilb	<1%	DUP materna con predisposición a translocación parental o cromosoma marcador	Aumentado; puede variar de <1% a 100%
IIla	<0.5%	DI con/sin deleción en CI	Tan alto como 50% si el padre también tiene deleción CI
IIlb	2%	Epimutación - DI con/sin deleción de CI	<1%

Ia. Los padres de pacientes con deleciones deben cariotipo y FISH para determinar si tienen un reordenamiento cromosómica relacionado. [Kokkonen y Leisti 2000].

Ib. Si se ha identificado una reordenamiento cromosómico en un probando, los riesgos para los hermanos y otros miembros de la familia dependen de si la reordenamiento es heredado por el padre o generado de novo (Cassidy et al 2012).

Ila. La DUP materna del 15 es típicamente de novo con un riesgo de recurrencia para las descendencia de menos del 1%, excepto si

hay una translocación Robertsoniana en cualquiera de los padres. Por lo tanto, el análisis cromosómico está indicado en el probando. (Cassidy et al 2012).

IIb. Los pacientes DUP 15 deben tener un análisis cromosómico para asegurarse de que no tengan una translocación robertsoniana heredada por la madre que teóricamente aumentaría el riesgo de recurrencia de la familia. En casos raros, la UPD ha resultado de una mala segregación de una translocación Robertsoniana y posterior a un rescate trisómico. (Cassidy et al 2012).

IIIa. Los pacientes con SPW causadas por un defecto de impronta (DI) deben ser analizadas por un laboratorio para detectar deleciones del CI. El 15% de aquellos con una DI lo tienen sobre la base de una microdelección en el IC. En aproximadamente la mitad de estos individuos, la deleción CI es familiar y el riesgo de recurrencia familiar es del 50%.

IIIb. La mayoría (~ 85%) de los que tienen una identificación tienen una variante epigenética patogénica de novo.

IV. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN:

A. DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO:

Se realizó un estudio descriptivo, transversal, y del tipo serie de casos. Se realizó un muestreo no probabilístico, basado en criterios diagnósticos.

B. POBLACIÓN DE ESTUDIO:

Se incluyeron pacientes de la consulta de Genética Médica que acudieron de manera consecutiva en el periodo de 1 año y que cumplieron con los criterios clínicos de Meral Gunay-Aygun de 2001.

C. UNIVERSO DE TRABAJO:

Pacientes referidos a la consulta de Genética con diagnóstico presuntivo de SPW, derechohabientes del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE.

D. RECURSOS:

Para esta investigación se utilizaron recursos humanos y materiales. Dentro de los recursos humanos se incluye la participación de los médicos residentes, médicos genetistas adscritos a la consulta capacitados para el diagnóstico de enfermedades genéticas como el síndrome de Prader Willi; y médicos adscritos al laboratorio de medicina genómica, capacitados para realización de estudios moleculares.

En los recursos materiales el CMN cuenta con un área física para la atención de los pacientes y un laboratorio equipado con termocicladores y cámaras electroforéticas para el análisis de metilación en el gen SNRPN; los recursos financieros para la compra de reactivos para las pruebas moleculares de este trabajo de investigación fueron cubiertos por parte del grupo de colaboradores.

A. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS A EMPLEAR:

Los pacientes que cumplieron con los criterios Meral Gunay-Aygun, fueron invitados a la participación de este estudio y brindaron su

autorización a través de una carta de consentimiento informado (Anexo 1).

Se construyó la base de datos de los pacientes a través de un interrogatorio directo y la consulta de los expedientes electrónicos. (Anexo 2)

A los pacientes seleccionados para el estudio se les tomó, una muestra sanguínea para la extracción de DNA, por el método salino estándar del laboratorio de Medicina Genómica (anexo 3).

Posteriormente se realizó la técnica de PCR-Sensible a metilación, previa modificación del DNA a través de la conversión de las citocinas no metiladas en uracilo, mediante tratamiento del DNA con bisulfito de sodio (Kit de metilación EZDNA bisulfito (anexo 4).

Aquellas citocinas que se encuentran originalmente metiladas (5-metilcitocina) son resistentes a la modificación con el bisulfito y por ende, permanecen inalteradas. Así, mediante PCR y utilizando oligonucleotidos específicos (Tabla 13) para las secuencias metiladas y no metiladas del gen SNRPN, es posible amplificar las

secuencias correspondientes en el alelo materno y en el alelo paterno.

Tabla 13: Primers usados para PCR específica para metilación

Set de primer	Secuencia de primer	Tamaño	Posición genómica
SNRPN-M (forward)	<i>TAAATAAGTAC<u>GTTTGC</u>GGTC</i>	174	+111
SNRPN-M (reverse)	<i>AAAATTACCC<u>GCTCCATC</u>CGC</i>		+284
SNRPN-P (forward)	<i>GTAGGTTGG<u>TGTGTATGTTAGGT</u></i>	100	+140
SNRPN-P (reverse)	<i>ACATCAAACATCTCCA<u>ACAACCA</u></i>		+239

Diferencias entre los primers y las diferentes secuencias, en DNA tratado y no tratado, y similitudes y diferencias entre maternal (metilado), y paternal (no metilado). Posición genómica localizada en nucleótido 5' del primer con relación de la primera base de la secuencia, en búsqueda de referencia en Genbank con numero de acceso: SNRP (exón a), L32702 (Sutcliffe 1994).

1. CONDICIONES DE LA PCR ALELO-ESPECÍFICA

El DNA se trató con bisulfito de sodio posterior a esto, el DNA (0.2-2 mg) se desnaturalizó con hidróxido de sodio y se incubó a 55 ° C durante la noche con hidroquinona y bisulfito de sodio (Sigma), y se purificó utilizando el sistema de limpieza Wizard DNA (Promega) con el colector de vacío Vac-Man Laboratory. (Promega).

La modificación se completó mediante tratamiento con hidróxido de sodio, seguido de precipitación con etanol. El DNA se resuspendió en 50 ul de TE. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo

en un volumen de 30 μ l que contenía 1x PCR Buffer II (Perkin-Elmer), 200 nM de dNTP, 2.0 mM de MgCl₂, 0.4 μ M de cebadores de PCR (en la PCR dúplex, 1.2 μ M de cebadores SNRPN-M y 0.4 μ M de SNRPN- P primers) 0,6 U de AmliTaq Gold (Perkin-Elmer) y DNA modificado con bisulfito (-30 ng). La polimerasa se activó a 95°C durante 10 min. (Tabla 14). El DNA se amplificó en un termociclador Perkin-Elmer modelo 9600 durante 35 ciclos a 94 ° C durante 30 s, 62 ° C durante 30 s y 72 ° C durante 30 s, seguido de una extensión final a 72 ° durante 10 min. Se utilizó un control negativo que consistía en la mezcla de reacción sin la plantilla de DNA para cada conjunto de reacciones. Los productos de la PCR se separaron en un gel de agarosa al 3%, se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron bajo iluminación UV. (Ilustración 1)

Tabla 14: Tabla de condiciones de PCR alelo específico

	<i>Alelo paterno</i>	<i>Alelo materno</i>
Buffer II	1x	1x
dNTPs	200 nM	200 nM
MgCl₂	2.0 mM	2.0 mM
Primers Rv P o M	0.4 μ M	1.2 μ M
Primers Fw P o M		
AmliTaq Gold	0.6 U	0.6 U

DNA modificado	~30 ng	~30 ng
Total:	30 μ l	30 μ l

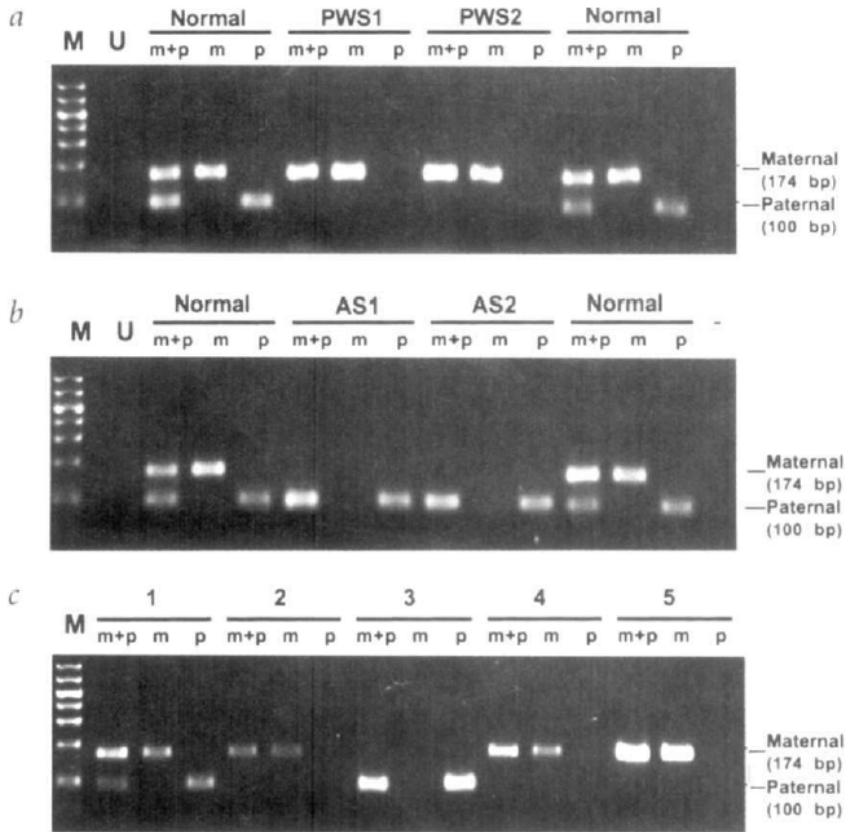


Ilustración 1. Ensayo de PCR Metilación específica (Tomada de Kubota et al, Nature Genetics 16, 16–17 (1997)).

E. ASPECTOS ÉTICOS

El desarrollo de este estudio implicó un riesgo mínimo, ya que la punción venosa para obtener la muestra sanguínea pudo eventualmente ocasionar un pequeño hematoma a los pacientes que participaron en el estudio, sin que esto se considere un potencial riesgo para la vida.

La identidad de los pacientes se resguardó en una base de datos independiente a la que solo tuvo acceso el grupo de trabajo de la investigación. No se identificó a ningún paciente de manera individual en la presentación de resultados, así como tampoco se identificará en alguna publicación que derive del presente trabajo.

Este protocolo fue sometido para su autorización a los Comités de Investigación y de Ética en Investigación del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre y cuenta con el número de registro 150-2018.

Toda la información y los datos recabados de los expedientes fue manejada de acuerdo a la Ley Federal de Protección de Datos Personales publicada el 5 de julio de 2010, cuyo

artículo 3, fracción V establece como dato personal a toda aquella información que permita identificar a una persona.

1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Con base al Código de Núremberg, obtener el consentimiento informado y voluntario de los sujetos humanos es absolutamente esencial.

Debido a que la carta de consentimiento es un requisito indispensable para solicitar la autorización de un proyecto o protocolo de investigación de acuerdo al Artículo 11, numeral 11.3 de la Norma Oficial Mexicana que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos (NOM-012-SSA3-2012) en el apartado de anexos se agrega el formato de Consentimiento Informado que fue utilizado en el presente estudio. (Anexo 1)

2. CONFLICTO DE INTERESES

Los miembros del equipo de trabajo declaran no tener conflictos de intereses en el desarrollo de esta investigación.

F. ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

La parte experimental de la investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Medicina Genómica del CMN 20 de Noviembre, clasificado con un nivel de bioseguridad 2 para el manejo de agentes biológicos.

Se tomaron las medidas generales de dicho nivel de bioseguridad en el manejo de muestras biológicas (sangre humana), incluyendo el uso de barreras físicas como: bata de algodón, guantes, cubre bocas y lentes de protección.

Además, todo el personal del laboratorio adoptó las medidas preventivas para su protección en el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias tóxicas e infecciosas; tomando en cuenta los requisitos generales aplicables en la materia, en particular las Normas Oficiales Mexicanas:

NOM-166-SSA1-1997. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

NOM-087-ECOL-1995. Que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica.

NOM-005-STPS-1998. De las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas.

NOM-009-STPS-1993. Relativa a las condiciones de seguridad e higiene para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias corrosivas, irritantes y tóxicas en los centros de trabajo.

NOM-018-STPS-2000. Que establece el sistema para la identificación y comunicación de riesgos por sustancias químicas en los centros de trabajo.

NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Relativa a la protección ambiental - salud ambiental - residuos peligrosos biológico infecciosos - clasificación y especificaciones de manejo.

Para las medidas del manejo de desechos biológicos y material contaminado se siguieron los lineamientos de la NOM-166-SSA1-1997, entre las que se incluyen:

Sangre en contenedores fue desechada en: Bolsa de plástico color roja.

Residuos no anatómicos: en Bolsa de plástico color roja.

Objetos punzocortantes usados y sin usar: en Recipientes rígidos color rojo.

También se tomó en cuenta la normatividad interna emitida por el ISSSTE, para la protección al personal expuesto, derivados de la NOM-166-SSA1-1997.

Las muestras de sangre periférica se consideran material potencialmente peligroso en cuanto a la posibilidad de transmitir patógenos sanguíneos (virus de la hepatitis (HBV, HCV, HDV), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), sífilis, etc.

Por lo tanto, la identificación, separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos, se realizó conforme lo establece la: LEY GENERAL PARA LA PREVENCIÓN Y GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RESIDUOS. Última reforma publicada DOF 22-05-2015. Es la máxima ley en el territorio de México en materia de gestión de residuos, esta ley abarca la gestión tanto de residuos no peligrosos sólidos urbanos como la gestión de los residuos peligrosos, considera además una tercera clasificación de residuos denominados residuos de manejo especial y está basada en el Artículo 4 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos y la Ley General del Equilibrio Ecológico y protección al ambiente.

Dado que el manejo y disposición final de los residuos peligrosos biológicos infecciosos se llevó a cabo de acuerdo a criterios de seguridad establecidos, este proyecto de investigación no implicó riesgo ambiental.

V. RESULTADOS

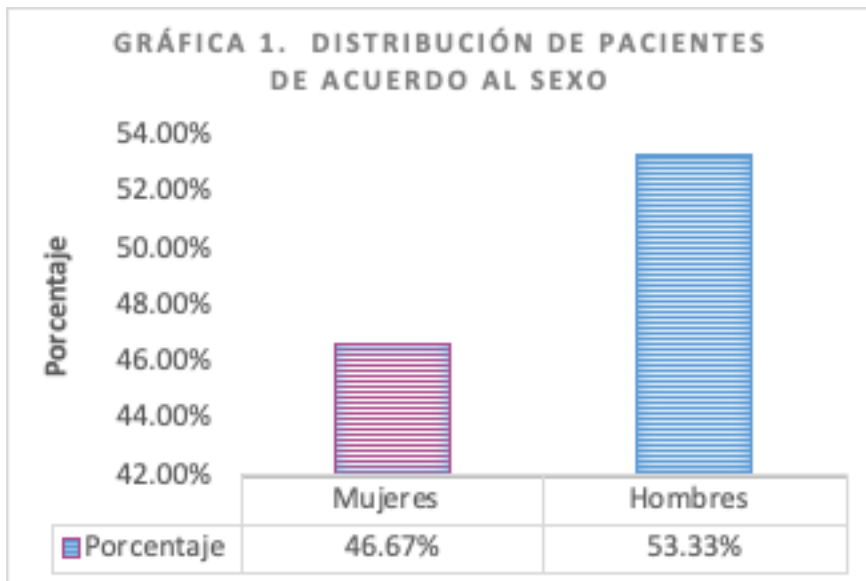
Se estudiaron 15 pacientes, con sospecha diagnóstica de SPW, que se encontraban en valoración subsecuente por el servicio de consulta externa de Genética Médica, del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” ISSSTE.

Se excluyeron a los pacientes, por no contar con expediente clínico completo, pacientes que no cumplían con los Criterios de Holm y Meral Gunay-Aygun o que no fue posible revalorar en la consulta.

El género de los pacientes fueron masculinos (53.33%) y femeninos (46.67%), con un rango de edad entre los 2 años y los 29 años. (Tabla 15 y 16)

Tabla 15. Frecuencia por edad y género de los pacientes.

Edades:	<1 año	1-3 años	3-5 años	6-12 años	13-19 años	>20 años	Total:
Frecuencia	0	2 (13.3%)	1 (6.6%)	5 (33.33)	5 (33.33%)	2 (13.3%)	15
Femeninos	0	2 (28.57%)	0	2 (28.57%)	2 (28.57%)	1 (14.29%)	7 (46.67%)
Masculinos	0	0	1 (12.5%)	3 (37.5%)	3 (37.5%)	1 (12.5%)	8 (53.33%)



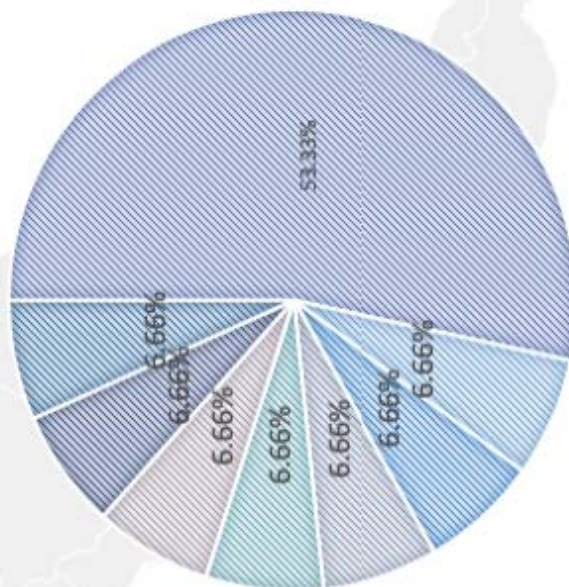
Los pacientes que participaron en nuestro estudio, fueron referidos desde los Hospitales locales y regionales de toda la república, al Centro Medico Nacional, “20 de noviembre” ISSSTE. (Tabla 17 y Gráfica 2).

Tabla 16. Tabla de Distribución de pacientes de acuerdo a su origen.

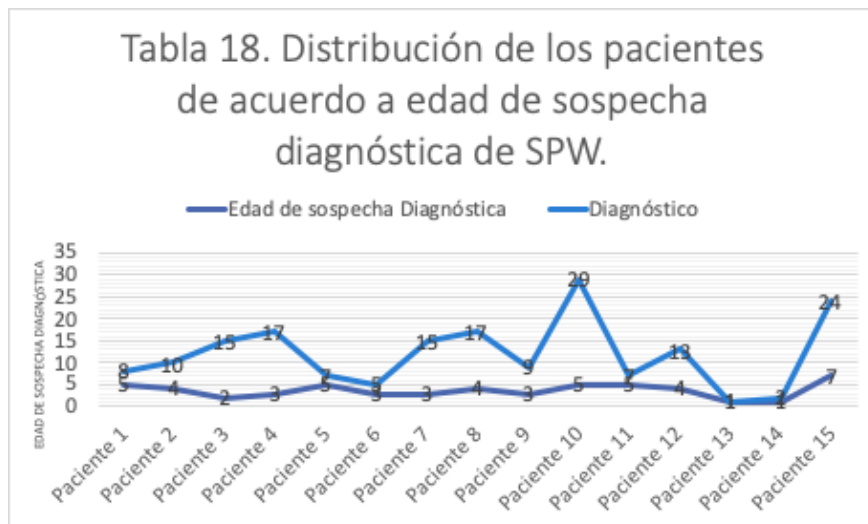
Estado	Pacientes	Porcentaje
Ciudad de México	8	53.33%
Estado de México	1	6.66%
Quintana Roo	1	6.66%
Chihuahua	1	6.66%
Baja California Sur	1	6.66%
Guerrero	1	6.66%
Nuevo Leon	1	6.66%
Oaxaca	1	6.66%
Total	15	100%

GRÁFICA 2. DE DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES SEGÚN SU ORIGEN

- Ciudad de México
- Estado de México
- Quintana Roo
- Chihuahua
- Baja California Sur
- Guerrero
- Nuevo Leon
- Oaxaca



Los pacientes valorados en nuestro servicio, fueron presentados al servicio con sospecha diagnóstica entre el primer año de edad y los 7 años.



Los pacientes seleccionados para la realización de este protocolo, requirieron para su valoración y diagnóstico del SPW el empleo de los criterios descritos por Holm et al, (1993) que proporcionan una medida cuantitativa de los síntomas. De los rasgos recogidos, ocho son considerados como criterios mayores y se puntúan con un punto, y once como criterios menores y se puntúan con medio punto. Debido a las diferencias existentes con la edad se han

utilizado dos parametros (0-36 meses y 3 años-adulto). Para menores de tres años, solo seis puntos son requeridos para el diagnóstico, de los cuales cuatro deben pertenecer a los criterios mayores. Para pacientes mayores de tres años, la puntuación debe de ser de ocho, los cuales cinco o más deben pertenecer a los criterios mayores. Los resultados de esto se muestran en la tabla 19.

Las características clínicas de cada paciente han sido recogidas en cédulas de información que se muestran en el anexo 3.

NA: No aplica, NR: no reportado, E:estrabismo, H: hipospadias, F: Facilidad de realizar Figuras, A: Autismo. C: Criptorquidia, NZ: No realizado, N: Normal.

Las muestras fueron tomadas con autorización de los pacientes, previa firma de consentimientos informados. A los pacientes se les extrajo 3-5 mL de sangre periférica de sangre periférica con EDTA para el estudio molecular. Se realizó extracción de DNA con Método Salino modificado (Anexo 1 y Figura 6).

Figura 6. Proceso de realización de Extracción de DNA, con Método salino modificado.

El DNA se trato mediante el inserto del Kit de Metilación EZDNA, Zymo Research Catalogo D5001 & D5002 (Anexo 2). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen de 12.5 µl que contenía 1x PCR Buffer, 0.3 µl de dNTP, 0.2 µl de cebadores de SNRPN-M y 0.6 µl de SNRPN- P, 0,1 µl de TaqHiFi y DNA modificado con bisulfito 1.5 µl (-30 ng) (Tabla 21).

Tabla 21. Tabla de condiciones de PCR.

	ALELO PATERNO	ALELO MATERNO
<i>H₂O</i> GM	11.2 µl	10.4 µl
BUFFER	1.5 µl	1.5 µl
DNTPS	0.3 µl	0.3 µl
PRIMERS RV P O M	0.2 µl	0.6 µl
PRIMERS FW P O M	0.2 µl	0.6 µl
TAQ HIFI + MGCL	0.1 µl	0.1 µl
DNA MODIFICADO	1.5 µl	1.5 µl
TOTAL:	12.5 µl	12.5 µl

Figura 7. Proceso de realización de PCR alelo específica.

La polimerasa se activó a 95°C durante 10 min. (Tabla 14). El DNA se amplificó en un termociclador Axigen modelo MAXIGENE II (Figura 7), durante 35 ciclos a 94 ° C durante 30 seg., 66 ° C durante 30 seg. para el alelo materno y 60° C para alelo paterno y 72 ° C durante 30 seg., seguido de una extensión final a 72 ° durante 5 min, que se describen en la tabla 22 y 23.

Tabla 22: Condiciones en termociclador para PCR alelo Materno			
Ciclos	Fases	Temperatura	Tiempo
1x	Desnaturalización inicial	95°	3 min.
	Desnaturalización	95°	30 seg.

35x	Alineamiento	66º	30 seg.
	Extensión	72º	30 seg.
1x	Extensión final	72º	5min.

Tabla 23: Condiciones en termociclador para PCR alelo paterno			
Ciclos	Fases	Temperatura	Tiempo
1x	Desnaturalización inicial	95º	3 min.
35x	Desnaturalización	95º	30 seg.
	Alineamiento	60º	30 seg.
	Extensión	72º	30 seg.
1x	Extensión final	72º	5min.

Figura 7. Termociclador Axigen modelo MAXIGENE II

Se utilizó un control negativo en cada realización de la prueba. Se realizó una electroforesis en cama horizontal con gel de agarosa al 3%.

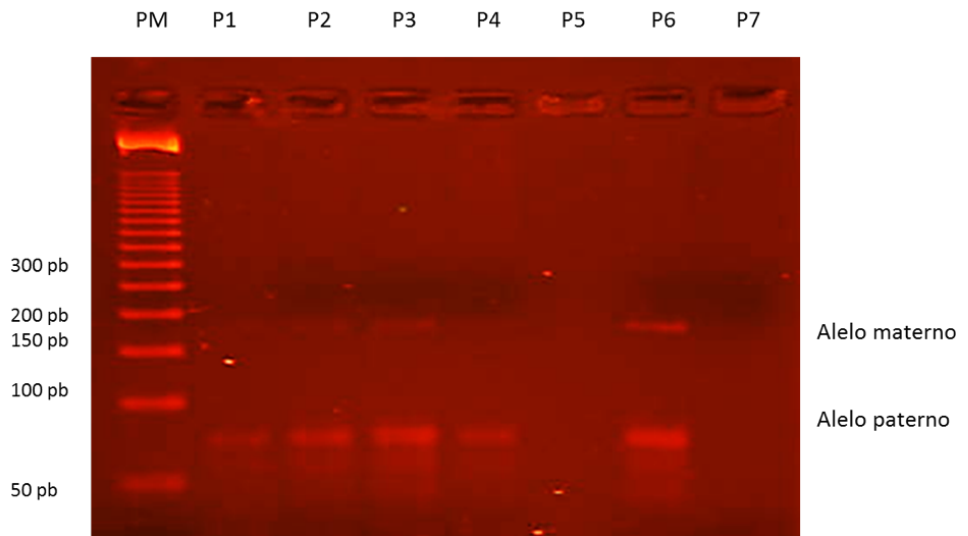
Los productos de la PCR se colocaron en la matriz de la cámara a un voltaje de 80 Vlt. Durante 120 min. Para permitir un adecuada resolución de los fragmentos a realizar, se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron bajo iluminación UV.

En los individuos normales el producto de la PCR de alelo materno pesa 174 pb y el paterno de 100 pb. , en los casos positivos para SPW encoencontraremos un amplificado de 174 pb en caso del alelo materno y un amplicado de 100 pb del alelo paterno.

Figura 8. Proceso de electroforesis y visualización en cámara UV.

Resultados de electroforesis grupal e individual

Los resultados de los pacientes de acuerdo a la electroforesis se muestran en las siguientes. Figuras, y aunque no son concluyentes, por problemas en la replicación del trabajo:



I. DISCUSIÓN

La evaluación clínica de las características fenotípicas de los pacientes permite, en una primera etapa, plantear la sospecha diagnóstica de los Síndromes de Prader Willi. Los antecedentes señalan que en este síndrome existe una correlación fenotipo - genotipo, siendo las manifestaciones fenotípicas menos severas en los casos de disomía uniparental que en aquellos producidos por deleción. Ello enfatiza la importancia de determinar la causa primaria del síndrome. También resulta importante determinar la presencia de otras alteraciones concomitantes que tendrían influencia en el fenotipo clínico. Sin embargo el poder otorgar un diagnóstico confirmatorio en el 99% de los casos, mediante la utilización de una prueba rápida y más sencilla de realizar, encaminaria al manejo oportuno y adecuado de estos pacientes.

El presente estudio documenta el uso de la prueba de metilación como una primera herramienta para la confirmación del diagnóstico en estos pacientes, aunque no puedo reproducirse por inconvenitnes con el estudio. El análisis de metilación de la región promotora del gen SNRPN distingue el origen parental del locus 15q11-q13, ya que el promotor contiene una isla CpG que se

encuentra metilada en el alelo materno y no metilada en el alelo paterno. Esta metilación diferencial permite distinguir el origen paterno y materno y constituye la base del análisis de metilación utilizado para el diagnóstico de SPW, permitiendo identificar la presencia exclusiva del alelo paterno o del materno por lo que enfoque para el diagnóstico de laboratorio de SPW dependerá de una serie de factores que incluye la disponibilidad local de los diferentes *tests* y de los estudios previos realizados al paciente, siendo el estudio del patrón de metilación de la región 15q11-q13 por técnicas moleculares el más sensible y fiable. Lamentablemente, la utilización de esta técnica muestra desventajas, debidas a los efectos de bisulfito en el DNA, ya que se ha demostrado que causa una degradación extensa de las secuencias diana y mayores pérdidas en los pasos de purificación, lo que puede afectar el rendimiento del ensayo y la inducción de sesgos en la amplificación. También existe un riesgo de arrojar resultados falsos positivos o sobreestimar la metilación de una secuencia dada debido a la conversión incompleta del bisulfito que lleva a que la secuencia sin metilar pueda ser amplificada por el cebador específico de metilación. También es importante recalcar, que este método, basado en la electroforesis en gel tiene varios inconvenientes ya que consume mucho tiempo, requiere de gran

cantidad de muestra y presenta un poder de separación de las bandas limitada. La prueba de PCR específica de metilación exige requerimientos concretos. En este sentido, la proporción de cebadores debe estar muy ajustada, para no tener problemas de amplificación alelo-específica. Así mismo, se tiene que ajustar la cantidad de DNA modificado, ya que resulta ser un parámetro crítico en la obtención de los resultados y debe ser ajustada antes de realizar la PCR.

II. CONCLUSIONES

En conclusión, dado que el síndrome de Prader Willi, presenta dificultades en el diagnóstico clínico, especialmente en el primer año de vida, por las características clínicas inespecíficas y difíciles de determinar en manos poco experimentadas, es aconsejable recurrir a estudios moleculares y citogenéticos que permitan precisar el diagnóstico, de forma oportuna. Se propone en muchas guías actuales el análisis de metilación como primer paso en la estrategia de diagnóstico de SPW; seguido del estudio citogenético para descartar otra alteración cromosómica, cuando el cuadro clínico así lo sugiera o la realización de MLPA, para determinar de

forma específica el mecanismo molecular por el que se genero este padecimiento. El análisis de metilación es rápido, simple, de bajo costo y detecta un porcentaje alto de los casos, lo que sustenta su aplicación para el diagnóstico inicial cuando existe sospecha clínica de este síndrome, aunque la replicación del estudio, no nos resultó fácil, y los resultados fueron inconclusos.

Consideramos que el establecimiento de una prueba diagnóstica en el laboratorio de medicina genómica permitiría brindar un mejor manejo y adecuado seguimiento de los pacientes de Síndrome de Prader-Willi del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, pero el alto costo de los reactivos y la poca fiabilidad de los resultados, no nos permite determinar que sea replicable y útil para el diagnóstico de nuestros pacientes.

VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Bello-Ulloa, L., Román-García, M., & Arnaiz-Paez, Y. (2016). Consideraciones históricas del Síndrome Prader-Willi; la atención educativa de este síndrome. *Educación y Sociedad*, 14(2), 27-40.
2. Cassidy, S. B., Schwartz, S., Miller, J. L., & Driscoll, D. J. (2011). Prader-willi syndrome. *Genetics in Medicine*, 14(1), 10-26.
3. Ohta T, Gray TA, Rogan PK, Buiting K, Gabriel JM, Saitoh S, et al, Imprinting-mutation mechanisms in Prader-Willi syndrome, *Am J Hum Genet* 1999; 64: 397-413.
4. Mutirangura A, Jayakumar A, Sutcliffe JS, Nakao M, Mc Kinney MJ, Buiting K, et al. A complete YAC contig of the Prader-Willi/Angelman chromosome region (15q11-q13) and redefined localization of the SNRPN gene, *Genomics* 1993; 18: 546-52.
5. Kosaki K, Mc Ginnis MJ, Veraksa AN, Mc Ginnis WJ, Jones KL. Prader-Willi and Angelman syndromes: diagnosis with a bisulfite-treated methylation-specific PCR method. *Am J Med Genet* 1997; 73:308-13.
6. Kubota T, Das S, Christian SL, Baylin SB, Herman JGG, Ledbetter DH. Methylation-specific PCR simplifies imprinting analysis. *Nat Genet* 1997; 16: 16-7.
7. Muralidhar B, Butler M. Methylation PCR analysis of Prader-Willi syndrome, Angelman syndrome, and control subjects, *Am J Med Genet* 1998; 80:253-65.
8. Hogart A, Nagarajan RP, Patzel KA, Yasui DH, Lasalle JM: 15q11-13 GABAA receptor genes are normally biallelically expressed in brain yet are subject to epigenetic dysregulation in autism spectrum disorders. *Hum Mol Genet* 2007.
9. Holm VA, Cassidy SB, Butler MG, Hanchett JM, Greenswag LR, Whitman BY, Greenberg F. Prader-Willi syndrome: consensus diagnostic criteria.
10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1330/>
11. Horsthemke B, Wagstaff J. Mechanisms of imprinting of the Prader-Willi/Angelman region. *Am J Med Genet Part A* 2008; 146: 2041-52.

12. Perk J, Makedonski K, Lande L, Cedar H, Razin A, Shemer R. The imprinting mechanism of the Prader-Willi/Angelman regional control center. *EMBO J* 2002; 21: 5807-14.
13. Libov A, Maino M. D. Prader-Willi Syndrome. *J Am Optom Assoc* 1994; 65: 355-9.
14. Erdel M, Schuffenhauer S, Buchholz B, Barth-Witte U, Kochl S, Utermann B, et al. Routine screening for microdeletions by FISH in 77 patients suspected of having Prader-Willi or Angelman syndromes using YAC clone 273A2 (D15S10). *Hum Genet.* 1996;97:84–93.
15. Garnacho C. Estudio citogenético y molecular por FISH y M-PCR de los síndromes de Prader-Willi y Angelman. Tesis Doctoral. 2002.
16. Mitchell J, Schinzel A, Langlois S, Gillissen-Kaesbach G, Schuffenhauer S, Michaelis R, et al. Comparison of phenotype in uniparental disomy and deletion Prader-Willi syndrome: Sex specific differences. *Am J Med Genet.* 1996;65:133–6.
17. Camprubi C, Coll MD, Villatoro S, Gabau E, Kamli A, Martínez MJ, et al. Imprinting center analysis in Prader-Willi and Angelman syndrome patients with typical and atypical phenotypes. *Eur J Med Genet.* 2007;50:11–20.
18. Butler MG, Bittel DC, Kibiryeveva N, Talebizadeh Z, Thompson T. Behavioral differences among subjects with Prader-Willi syndrome and type I or type II deletion and maternal disomy. *Pediatrics.* 2004;113:565–73.
19. Robinson WP, Dutly F, Nicholls RD, Bernasconi F, Pen˜a Herrera M, Michaelis RC, et al. the mechanisms involved in formation of deletions and duplications of 15q11-q13. *J Med Genet.* 1998;35:130–6.
20. Gillissen-Kaesbach G, Robinson W, Lohmann D, Kaya-Westerloh S, Passarge E, Horsthemke B. Genotype-phenotype correlation in a series of 167 deletion and non-deletion patients with Prader-Willi syndrome. *Hum Genet.* 1995;96:638–43.
21. Butler MG, Theodoro MF, Bittel DC, Donnelly JE. Energy expenditure and physical activity in Prader-Willi syndrome:

- comparison with obese subjects. *Am J Med Genet A* 2007;143:449–459.
22. Goldstone AP, Thomas EL, Brynes AE, et al. Visceral adipose tissue and metabolic complications of obesity are reduced in Prader-Willi syndrome female adults: evidence for novel influences on body fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4330–4338.
 23. Grugni G, Giardino D, Crinò A , et al. Secreción de hormona del crecimiento en pacientes adultos con síndrome de Prader-Willi debido a diferentes subtipos genéticos . *J Endocrinol Invest* 2011 ; **34** : 493 - 497 .
 24. Mogul HR, Lee PD, Whitman BY, et al. Growth hormone treatment of adults with Prader-Willi syndrome and growth hormone deficiency improves lean body mass, fractional body fat, and serum triiodothyronine without glucose impairment: results from the United States multicenter trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;**93**:1238–1245.
 25. Scaroni C, Ceccato F, Rizzati S, Mantero F. Concomitant therapies (glucocorticoids and sex hormones) in adult patients with growth hormone deficiency. *J Endocrinol Invest* 2008;**31(suppl 9)**:61–65.
 26. Nyunt O, Cotterill AM, Archbold SM, et al. Normal cortisol response on low-dose synacthen (1 microg) test in children with Prader Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;**95**:E464–E467.
 27. Farholt S, Sode-Carlson R, Christiansen JS, Østergaard JR, Høybye C. Normal cortisol response to high-dose synacthen and insulin tolerance test in children and adults with Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;**96**:E173–E180.
 28. Festen DA, de Weerd AW, van den Bossche RA, Joosten K, Hoeve H, Hokken-Koelega AC. Sleep-related breathing disorders in prepubertal children with Prader-Willi syndrome and effects of growth hormone treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;**91**:4911–4915.
 29. Priano L, Grugni G, Miscio G, et al. Sleep cycling alternating pattern (CAP) expression is associated with hypersomnia and GH

- secretory pattern in Prader-Willi syndrome. *Sleep Med* 2006;**7**:627–633.
30. Dauvilliers Y, Baumann CR, Carlander B, et al. CSF hypocretin-1 levels in narcolepsy, Kleine-Levin syndrome, and other hypersomnias and neurological conditions. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2003;**74**:1667–1673.
 31. Nevsimalova S, Vankova J, Stepanova I, Seemanova E, Mignot E, Nishino S. Hypocretin deficiency in Prader-Willi syndrome. *Eur J Neurol* 2005;**12**:70–72.
 32. Bruni O, Verrillo E, Novelli L, Ferri R. Prader-Willi syndrome: sorting out the relationships between obesity, hypersomnia, and sleep apnea. *Curr Opin Pulm Med* 2010;**16**:568–573.
 33. Hayashi M, Miyata R, Tanuma N. Decrease in acetylcholinergic neurons in the pedunculo-pontine tegmental nucleus in a patient with Prader-Willi syndrome. *Neuropathology* 2011;**31**:280–285.
 34. West LA, Ballock RT. High incidence of hip dysplasia but not slipped capital femoral epiphysis in patients with Prader-Willi syndrome. *J Pediatr Orthop* 2004;**24**:565–567.
 35. Shim JS, Lee SH, Seo SW, Koo KH, Jin DK. The musculoskeletal manifestations of Prader-Willi syndrome. *J Pediatr Orthop* 2010;**30**:390–395.
 36. Glenn CC, Driscoll DJ, Yang TP, Nicholls RD. Genomic imprinting: potential function and mechanisms revealed by the Prader-Willi and Angelman syndromes. *Mol Hum Reprod* 1997;**3**:321–332.
 37. Butler JV, Whittington JE, Holland AJ, Boer H, Clarke D, Webb T. Prevalence of, and risk factors for, physical ill-health in people with Prader-Willi syndrome: a population-based study. *Dev Med Child Neurol* 2002;**44**:248–255.
 38. Einfeld SL, Kavanagh SJ, Smith A, Evans EJ, Tonge BJ, Taffe J. Mortality in Prader-Willi syndrome. *Am J Ment Retard* 2006;**111**:193–198.
 39. Schrandt-Stumpel CT, Curfs LM, Sastrowijoto P, Cassidy SB, Schrandt JJ, Fryns JP. Prader-Willi syndrome: causes of death in an international series of 27 cases. *Am J Med Genet A* 2004;**124A**:333–338.

40. Stevenson DA, Anaya TM, Clayton-Smith J, et al. Unexpected death and critical illness in Prader-Willi syndrome: report of ten individuals. *Am J Med Genet A* 2004;**124A**:158–164.
41. Tauber M, Diene G, Molinas C, Hébert M. Review of 64 cases of death in children with Prader-Willi syndrome (PWS). *Am J Med Genet A* 2008;**146**:881–887.
42. Stevenson DA, Heinemann J, Angulo M, et al. Deaths due to choking in Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet A* 2007;**143**:484–487.
43. Nicholls RD, Knoll JH, Butler MG, Karam S, Lalande M. Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in nondeletion Prader-Willi syndrome. *Nature* 1989;**342**:281–285.
44. Yamazawa K, Ogata T, Ferguson-Smith AC. Uniparental disomy and human disease: an overview. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2010;**154C**:329–334.
45. Miller JL, Lynn CH, Driscoll DC, et al. Nutritional phases in Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet A* 2011;**155A**:1040–1049.
46. Gillessen-Kaesbach G, Robinson W, Lohmann D, Kaya-Westerloh S, Passarge E, Horsthemke B. Genotype-phenotype correlation in a series of 167 deletion and non-deletion patients with Prader-Willi syndrome. *Hum Genet* 1995;**96**:638–643.
47. Cassidy SB, Forsythe M, Heeger S, et al. Comparison of phenotype between patients with Prader-Willi syndrome due to deletion 15q and uniparental disomy 15. *Am J Med Genet* 1997;**68**:433–440.
48. Cassidy SB, Lai LW, Erickson RP, et al. Trisomy 15 with loss of the paternal 15 as a cause of Prader-Willi syndrome due to maternal disomy. *Am J Hum Genet* 1992;**51**:701–708.
49. Purvis-Smith SG, Saville T, Manass S, et al. Uniparental disomy 15 resulting from “correction” of an initial trisomy 15. *Am J Hum Genet* 1992;**50**:1348–1350.
50. Liehr T, Brude E, Gillessen-Kaesbach G, et al. Prader-Willi syndrome with a karyotype 47,XY,+min(15)(pter->q11.1:) and maternal UPD 15—case report plus review of similar cases. *Eur J Med Genet* 2005;**48**:175–181.

51. Buiting K. Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2010;**154C**:365–376.
52. Gillessen-Kaesbach G, Robinson W, Lohmann D, Kaya-Westerloh S, Passarge E, Horsthemke B. Genotype-phenotype correlation in a series of 167 deletion and non-deletion patients with Prader-Willi syndrome. *Hum Genet* 1995;**96**:638–643.
53. Butler MG. Hypopigmentation: a common feature of Prader-Labhart-Willi syndrome. *Am J Hum Genet* 1989;**45**:140–146.
54. Dykens EM. Are jigsaw puzzle skills ‘spared’ in persons with Prader-Willi syndrome? *J Child Psychol Psychiatry* 2002;**43**:343–352.
55. Roof E, Stone W, MacLean W, Feurer ID, Thompson T, Butler MG. Intellectual characteristics of Prader-Willi syndrome: comparison of genetic subtypes. *J Intellect Disabil Res* 2000;**44(Pt 1)**:25–30.
56. Torrado M, Araoz V, Baialardo E, et al. Clinical-etiological correlation in children with Prader-Willi syndrome (PWS): an interdisciplinary study. *Am J Med Genet A* 2007;**143**:460–468.
57. Holland AJ, Whittington JE, Butler J, Webb T, Boer H, Clarke D. Behavioural phenotypes associated with specific genetic disorders: evidence from a population-based study of people with Prader-Willi syndrome. *Psychol Med* 2003;**33**:141–153.
58. Veltman MW, Thompson RJ, Roberts SE, Thomas NS, Whittington J, Bolton PF. Prader-Willi syndrome—a study comparing deletion and uniparental disomy cases with reference to autism spectrum disorders. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 2004;**13**:42–50.
59. Whittington J, Holland A, Webb T, Butler J, Clarke D, Boer H. Cognitive abilities and genotype in a population-based sample of people with Prader-Willi syndrome. *J Intellect Disabil Res* 2004;**48(Pt 2)**:172–187.
60. Butler MG, Bittel DC, Kibiryeva N, Talebizadeh Z, Thompson T. Behavioral differences among subjects with Prader-Willi syndrome and type I or type II deletion and maternal disomy. *Pediatrics* 2004;**113(3 Pt 1)**:565–573.
61. Hartley SL, Maclean WE Jr, Butler MG, Zarccone J, Thompson T. Maladaptive behaviors and risk factors among the genetic

- subtypes of Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet A* 2005;**136**:140–145.
62. Milner KM, Craig EE, Thompson RJ, et al. Prader-Willi syndrome: intellectual abilities and behavioural features by genetic subtype. *J Child Psychol Psychiatry* 2005;**46**:1089–1096.
63. Varela MC, Kok F, Setian N, Kim CA, Koiffmann CP. Impact of molecular mechanisms, including deletion size, on Prader-Willi syndrome phenotype: study of 75 patients. *Clin Genet* 2005;**67**:47–52.
64. Rougeulle, C., & Heard, E. (2002). Antisense RNA in imprinting: spreading silence through Air. *TRENDS in Genetics*, 18(9), 434-437.

VII. ANEXOS

Anexo 1: Extracción de DNA: Método Salino modificado.

1. Fase	<ol style="list-style-type: none">1. Colocar 500 µl de sangre total en un tubo Eppendorf de 1.5 ml.2. Adicionar 500 µl de solución de lisis.3. Vortexear4. Incubar 30 min. A 4°C5. Centrifugar a 14,000 RPM por 2 min.6. Decantar sobrenadante.7. Lavar con 1 ml de solución de lisis.8. Vortexear9. Centrifugar a 14,000 RPM por 2 min.10. Decantar el sobrenadante.11. Adicionar 1 ml. De solución salina o sol. De lisis.12. Vortexear13. Centrifugar a 14,000 RPM por 2 min.14. Decantar sobrenadante.15. Resuspender el botón en 570 µl de NaCl 5.0 mM.16. Vortexear17. Adicionar 40 µl de SDS al 10%.18. Vortexear durante 5 min.19. Adicionar 200 µl de Cloruro de Sodio Saturado.20. Vortexear21. Centrifugar a 14,000 RPM por 10 min.22. Recuperar la fase líquida.23. Adicionar 600 µl de Cloroformo-alcohol isoamílico 49:1.24. Vortexear por 2 min.25. Centrifugar a 14,000 RPM por 6 min.26. Transferir la fase superior a un frasco conteniendo 5ml. De etanol absoluto frío (-20°C).27. Almacenar toda la noche (o dos horas) a -20°C.
2. Fase	<ol style="list-style-type: none">28. Con la micropipeta tomar cuidadosamente el DNA y trasferirlo a tubo Eppendorf de 0.5 ml. Conteniendo 400 µl de etanol a 70%.29. Centrifugar a 14,000 RPM por 6 min.30. Decantar el etanol cuidadosamente.31. Dejar secar el DNA a temperatura ambiente.32. Resuspender de acuerdo al botón con agua, o TE.33. Cuantificar DNA (NanoPhotometer, IMPLEN)

Anexo 2: Modificación de DNA Kit de Metilación EZDNA Zymo Research Catalogo D5001 & D5002

Modificación de DNA/Protocolo:

1. **Kit de Metilación EZDNA, Zymo Research Catalogo D5001 & D5002**
2. **Especificaciones:**
 - 2.1.1. Para optimizar resultados las muestras de DNA tendrán una concentración de DNA de 200 a 500 ng.
 - 2.1.1.1. Cuantificar las muestras con Nanodrop (NanoPhotometer, IMPLEN)
3. En tubo Eppendorf de 0.5 µl, colocar 3-5 µl de muestra de DNA y agregar 5 µl de *M-dilution Buffer* y ajustar el volumen a 50 µl total con **H₂O** grado molecular.
4. Incubar muestras a 37°C por 15 min.
5. Agregar 100 µl de *CT-Conversion Reagent* a cada muestra y mezclar.
6. Incubar muestra a 50°C durante 12 a 16 horas.
7. Incubar muestras a 4°C, durante 10 min. (puede quedarse hasta 20 hrs.).
8. Adicionar 400 µl de *M-Binding Buffer* a la columna IC, y dentro de tubo colector (marcar tapa y tubo para identificar).
9. Poner muestras de incubación, en cada columna que contiene el *M-Binding Buffer*, tapar y mezclar (invertir la columna varias veces).
10. Centrifugar a velocidad máxima (13,300 RPM) durante 30 seg. Y decantar sobrenadante.
11. Agregar 100 µl de *M-Wash Buffer* a la columna y centrifugar a 10,000 RPM durante 30 segundos y decantar sobrenadante.
12. Agregar 200 µl de *M-Desulphonation Buffer* a la columna, dejar a temperatura ambiente por 10-15 min. Y centrifugar a 13,300 RPM por 30 segundos.
13. Agregar 100 µl de *M-Wash Buffer* a la columna y centrifugar a 10,000 RPM durante 30 segundos y decantar sobrenadante.
14. Pasar columna a microtubo de 1.5 ml, agregar 10 µl de *M-Elution Buffer* a la matriz de la columna y centrifugar por 30 seg. A 13,300 RPM.
15. El DNA recuperado esta listo para usarse de inmediato o ser guardado a -20°C para su uso despues. (si se requiere guardarlo largo tiempo, a -70°C).
16. Cuanatificar DNA con Nanodrop (NanoPhotometer, IMPLEN)
17. Se recomienda utilizar de 1 a 4 µl del DNA eludido para PCR.

Anexo 3: Cedula de recolección de Datos de Pacientes

NO. PROTOCOLO: 150.2018.

Hoja de recolección de datos de pacientes Protocolo: "Análisis de metilación alelo específico para Síndrome de Prader Willi"

Nombre:				No. Expediente:	
Edad:		Sexo:		Fecha Nacimiento:	
Religión:			Originario:		
Teléfono de contacto (celular) y Dirección:			Residente:		

- Antecedentes de importancia:

- Antecedentes heredofamiliares: (árbol genealógico).

- Antecedentes personales patológicos:

Médicos:

Quirúrgicos

Transfusionales: (año, reacción adversa)

Alérgicos:

Traumatológicos:

Esquema de vacunación para su edad:

Dra. Samantha López Ramírez / Dra. María del Carmen Chima Galán
Residente de tercer año de Genética Médica / Médico Adscrito al Servicio de Medicina Genómica
CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", ESSSTE



1

• **Exploración física:**

Somatometría:		
Edad: (años y meses)		
Peso: (kg)		
Perímetro cefálico: (cm)		
Índice de masa corporal:		
	Derecha	Izquierda:
Longitud de mano: (cm)		
Longitud de dedo medio: (cm)		
Longitud de pie: (cm)		

• **Criterios de Diagnóstico Clínico y los Criterios Revisados Propuestos**

Criterios de Holm	Si lo presenta (edad)	No lo presenta
Holm VA, Cassidy SB, Butler MG, Hanchett JM, Greenwag LR, Whitman BV, Greenberg F. 1993. Prader-Willi syndrome: consensus diagnostic criteria. <i>Pediatrics</i> 91:399-402.		
Criterios mayores:		
1. Hipotonía central neonatal e infantil con mala succión, mejorando gradualmente con la edad.		
2. Problemas de alimentación en la infancia con la necesidad de técnicas especiales de alimentación y pobre aumento de peso / falta de crecimiento		
3. Ganancia de peso excesiva o rápida de peso por longitud [excesivo se define como superior a 2 percentiles] después de 12 meses pero antes de los 6 años de edad; obesidad central en ausencia de intervención		
4. Rasgos faciales característicos con dolicocefalia en la infancia, cara estrecha o diámetro bitrontal, ojos en forma de almendra, boca pequeña con labio superior delgado, comisuras labiales dirigidas hacia abajo (se requieren 3 o		

Dra. Samantha López Ramírez / Dra. María del Carmen Chima Galán
 Residente de tercer año de Genética Médica / Médico Adscrito al Servicio de Medicina Genómica
 CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



más).		
5. Hipogonadismo - con cualquiera de los siguientes, dependiendo de la edad.		
<ul style="list-style-type: none"> a. Hipoplasia genital, b. Masculino: hipoplasia escrotal, criptorquidia, pene pequeño y / o testículos para la edad [percentil 5], Maduración gonadal tardía o incompleta con signos puberales retardados en ausencia de intervención después de los 16 años de edad (varones: gónadas pequeñas, vello facial y corporal disminuido, falta de cambio de voz, c. Femenino: ausencia o hipoplasia grave o labios menores y / o clítoris. Maduración gonadal tardía o incompleta con signos puberales retardados en ausencia de intervención después de los 16 años de edad en mujeres: amenorrea / oligomenorrea después de los 16 años). 		
6. Retraso global del desarrollo en un niño de 6 años de edad, retardo mental leve o moderado o problemas de aprendizaje en niños mayores		
7. Hipertagia / alimentación de alimentos / obsesión por los alimentos.		
8. Supresión 15q11-13 en alta resolución (650 bandas) u otra anomalía molecular citogenética del cromosoma de Prader-Willi región, incluida la disomía materna		
Criterios menores		
1. Disminución del movimiento fetal o letargo infantil o llorar débil en la infancia, mejorando con la edad		
2. Problemas característicos del comportamiento: berrinches, explosiones violentas y comportamiento obsesivo-compulsivo; tendencia a ser argumentativo, opositorista, rígido, manipulador posesivo y obstinado; perseverar, robar y mentir (5 o más de estos síntomas requeridos)		
3. Trastornos del sueño y apnea del sueño		
4. Estatura baja para el fondo genético antes de los 15 años (en ausencia de intervención de la hormona del crecimiento)		
5. Hipopigmentación: piel y pelo justos en comparación con la familia		
6. Manos pequeñas (percentil 25) y / o pies (percentil 10) para la edad de la talla.		
7. Manos estrechas con bordes ulnares rectos		

Dra. Samantha López Ramírez / Dra. María del Carmen Chima Galán
 Residente de tercer año de Genética Médica / Médico Adscrito al Servicio de Medicina Genómica
 CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



8. Anomalías oculares (esotropía, miopía)		
9. Saliva espesa y viscosa con costras en las esquinas de la boca		
10. Defectos de la articulación del habla		
11. Recolectión de la piel		
Conclusiones de apoyo		
1. Alto umbral de dolor		
2. Disminución del vómito		
3. Inestabilidad de la temperatura en la infancia o alteración de la sensibilidad a la temperatura en niños mayores y adultos		
4. Escoliosis y / o cifosis		
5. Adrenalina temprana		
6. Osteoporosis		
7. Habilidad inusual con puzles (rompecabezas)		
8. Estudios neuromusculares normales		
<p>Para puntuar, los criterios principales se ponderan en 1 punto cada uno, y los criterios menores se ponderan en ½ punto cada uno. Los hallazgos de apoyo aumentan la certeza del diagnóstico pero no se califican. Para niños de 3 años de edad o menos, se requieren 5 puntos, de los cuales 4 deben provenir del grupo principal. Para niños de 3 años de edad y para adultos, se requiere un puntaje total de 8 y los criterios principales deben incluir 3 o más puntos de la puntuación total.</p>		

Puntaje Criterios de Holm: _____

Dra. Samantha López Ramírez / Dra. María del Carmen Chima Galán
 Residente de tercer año de Genética Médica / Médico Adscrito al Servicio de Medicina Genómica
 CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", SSSTE



Tabla de criterios clínicos para realización del estudio de síndrome de Prader-Willi.

Meral Gunay-Aygun, MD *; Stuart Schwartz, PhD †; Shauna Heeger, MS ‡; Mary Ann O’Riordan, MS§; y Suzanne B. Cassidy, MD

Edad de presentación:	Característica clínica:	Palomear si Presenta o presentó, esta característica
Nacimiento a los 2 años de edad.	1. Hipotonía con pobre succión.	
2 años a 6 años.	1. Hipotonía con historia de pobre succión.	
	2. Retraso global del desarrollo.	
6 años a 12 años.	1. Hipotonía con historia de pobre succión. (persistencia de hipotonía).	
	2. Retraso global del desarrollo.	
	3. Conducta de alimentación excesiva. (hiperfagia, obsesión por la comida, etc.) con obesidad central de difícil control.	
13 años a edad adulta.	1. Déficit intelectual, retraso mental moderado.	
	2. Conducta de alimentación excesiva. (hiperfagia, obsesión por la comida, etc.) con obesidad central de difícil control.	
	3. Hipogonadismo hipotalámico, y/o problemas en el comportamiento (incluidos berrinches o rabietas y características obsesivas compulsivas)	

Puntaje Criterios de Meral Gunay-Aygun: _____

Meral Gunay-Aygun, MD *; Stuart Schwartz, PhD †; Shauna Heeger, MS ‡; Mary Ann O’Riordan, MS§; y Suzanne B. Cassidy, MD. *Pediatría* 2001; 108; e92 DOI: 10.1542 / peds.108.5.e92

Teléfono de contacto celular para recolección de muestra: [7711402196](tel:7711402196) y [5564725094](tel:5564725094)
 Correo electrónico: samy_0991@hotmail.com y carmenchimag@yahoo.com.mx

Dra. Samantha López Ramírez / Dra. María del Carmen Chima Galán
 Residente de tercer año de Genética Médica / Médico Adscrito al Servicio de Medicina Genómica
 CENTRO MÉDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE", ISSSTE



INFORMACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS ALTERNATIVOS O TRATAMIENTOS EXISTENTES:

MANEJO DE LA INFORMACION.

En la recolección de datos personales se siguen todos los principios que marca la ley (art. 6): Licitud, calidad, consentimiento, información, finalidad, lealtad, proporcionalidad y responsabilidad. Se han implementado las medidas de seguridad, técnicas, administrativas y físicas necesarias para proteger sus datos personales y evitar daño, pérdida, alteración, acceso o tratamiento no autorizado. Se mantendrá la confidencialidad de los pacientes, los datos serán resguardados en una base de datos.

PARTICIPANTE.

Confirmando haber recibido información suficiente y clara sobre el estudio propuesto, doy mi autorización para que mi familiar pueda ser incluido en este proyecto de investigación, reservándome el derecho de retirarlo en cualquier momento si así lo decida.

No procede asentimiento.

Nombre y firma del Participante o Representante legal.

Parentesco: _____

Domicilio: _____

TESTIGOS:

(1) Nombre y firma

Parentesco: _____

Domicilio: _____

(2) Nombre y firma

Parentesco: _____

Domicilio: _____

2/3

VIII. ABREVIATURAS

ace.- fragmento acéntrico
add.- material adicional de origen desconocido **c.-** anomalía constitucional
cen.- centrómero (p10 ó q10)
chi.- quimera
chr.- cromosoma
cht.- cromátida
ci.- Centro de impronta.
de novo.- que no lo presentaban los padres
del.- deleción
der.- cromosoma derivado
dic.- dicéntrico
dir.- directa
dir dup.- duplicación directa
dis.- distal
dup.- duplicación
end.- endorreduplicación
fem.- hembra
fis.- fisión
fra.- sitio frágil
g.- espacio, gap
h.- heterocromatina constitutiva
hsr.- región teñida homogéneamente
i.- isocromosoma
inc.- cariotipo incompleto
ins.- inserción
inv.- inversión
inv ins.- inserción inversa
; separación entre cromosomas o marcas de cromosomas diferentes
γ desde γ hasta
+ aumento en el número o en el tamaño de los cromosomas
mal.- macho
mar.- cromosoma marcador

mat.- origen materno
ml.- línea principal
mos.- mosaico
p.- brazo corto
pat.- origen paterno
pter.- telómero brazo corto
q.- brazo largo
qter.- telómero brazo largo
r.- cromosoma en anillo
rec.- cromosoma recombinante
rep.- recíproca, normalmente translocación
rob.- trans. Robertsoniana
s.- satélite
sce.- intercambio entre cromátidas hermanas **scf.-** constricción secundaria
t.- translocación
tan.- tándem
tas.- asociación telomérica
tel.- telómero
tric.- tricéntrico
upd.- disomía uniparental
xma.- quiasma

IX. GLOSARIO

ACETILACION: adición de un grupo acetilo a una molécula (como en la acetilación de las histonas)

ACROCENTRICO: cromosoma cuyo centrómero está próximo al extremo de un brazo

ALELO: abreviatura convencional de “aleomorfo”, se refiere a las diferentes formas o secuencias de DNA que puede tener un gen en una población

AMINOACIDOS: principales bloques de construcción de los polipeptidos. Cada uno de los 20 aa está codificado por uno o varios codones de mRNA

ANAFASE: una de las fases de la división celular, en la cual las cromátidas hermanas se separan y se desplazan hacia los lados opuestos de la célula.

ANEUPLOIDE: trastorno en el cual el número de cromosomas no es un múltiplo de 23 como en la trisomía y monosomía

ANOMALIAS CROMOSOMICAS: uno de los principales grupos de enfermedades genéticas, consistentes en alteraciones observables al microscopio del número o estructura de los cromosomas.

ANTICODON: secuencia de DNA de 3 nucleótidos en una molécula de tRNA que experimenta emparejamiento de bases complementarias con un codón de mRNA

AUTOSOMAS: los 22 pares de cromosomas excluyendo los cromosomas sexuales

BANDEO C: tipo de tinción cromosómica que pone de relieve la heterocromatina constitutiva que se encuentra en los centrómeros y proximidades

BANDEO CROMOSOMICO: proceso de aplicar tinciones específicas a los cromosomas con el fin de obtener patrones de bandas característicos.

BANDEO DE ALTA RESOLUCION: bandeo cromosómico que utiliza cromosomas en profase o prometafase que están más extendidos que los cromosomas en metafase y por tanto dan lugar a mayor resolución

BANDEO G: tipo de tinción que produce bandas G en los cromosomas

BANDEO INVERSO: técnica de bandeo cromosómico en el cual los cromosomas se calientan en un amortiguador fosfato, produce bandas oscuras y claras que forman patrones inversos a los producidos en bandeo G

CARIOGRAMA: imagen impresa de los cromosomas individuo

CENTRIOLO: estructura celular que ayuda a separar los cromosomas durante la meiosis y mitosis

CICLO CELULAR: secuencia alternante de mitosis e interfase

CITOGENETICA: enfermedades causadas por alteraciones en el número y estructura de los cromosomas

CODIGO GENETICO: combinaciones de codones de mRNA que especifican aminoácidos individuales

CODON: grupo de 3 bases de mRNA cada una de las cuales especifica un aminoácido durante la traducción

CROMOSOMA: estructura en forma de hebra formada por cromatina, los genes están dispuestos a lo largo de los cromosomas.

DELECCION: pérdida de material cromosómico ya sea terminal o intersticial

DIPLOIDE: que tiene dos copias del mismo cromosoma.

DISOMIA UNIPARENTAL: condición en la cual las 2 copias de un cromosoma derivan de un único progenitor y del otro no deriva ninguna copia

DISPERMIA: fertilización de un único ovulo por 2 espermatozoides

EPIGENÉTICA: Se refiere a un estado de actividad génica que puede ser estable durante largo tiempo, persiste por varias divisiones celulares o incluso se hereda a través de varias generaciones, todo ello sin ningún cambio en la secuencia de DNA.

EUPLOIDE: células cuyo número de cromosomas es un múltiplo de 23

EXONES: partes de los genes que codifican aminoácidos y se conservan después de la segmentación del transcrito de mRNA primario

FENOTIPO: características observadas en un individuo

GEN: unidad fundamental de la herencia

GENOMA: la totalidad del DNA de un organismo

GENOTIPO: constitución alélica de un individuo en un locus

HAPLOIDE: células que tiene una copia de cada cromosoma, el estado típico de los cromosomas

HEMICIGOTO: gen que está presente en una única copia

HETEROCROMATINA: cromatina de coloración oscura que permanece inactiva en la transcripción y consiste en DNA repetitivo

HETEROPLASMIA: existencia de secuencias de DNA divergentes en un locus dentro de una única célula

INTRON: secuencia de DNA entre 2 exones

LINEA GERMINAL: células responsables de la producción de gametos

LOCUS: ubicación cromosómica de un gen específico

METILACION: unión de grupos metilos, adición de metilos a las bases de citosina

MONOSOMIA: condición aneuploide en la cual un cromosoma específico está presente en una sola copia

MOSAICISMO: existencia de 2 o más líneas celulares genéticamente distintas en un individuo

MUTACION: alteración de la secuencia de DNA

NO DISYUNCION: fracaso de cromosoma homólogos o cromatides hermanas a la hora de separarse correctamente en células descendientes diferentes

POLIMORFISMO: locus en el cual dos alelos o más tiene frecuencias génicas superiores a 0,01 en una población

REPLICACION: proceso en el que se duplica la molécula de DNA bicatenario

SEGREGACION: distribución de los genes de cromosomas homólogos en diferentes gametos durante la meiosis

SINDROME: patrón de múltiples malformaciones o defectos primarios que se deben en su totalidad a una única causa subyacente

TRANSLOCACION: intercambio de material genético entre cromosomas no homólogos

TRANSLOCACION ROBERTSONIANA: translocación en la cual los brazos largos de 2 cromosomas acrocéntricos se fusionan en el centrómero

TRIPLOIDIA: condición poliploide en la cual el individuo tiene 3 copias de cada cromosoma en cada célula, con un total de 69 cromosomas.